【公報種別】特許公報の訂正
【部門区分】第３部門第２区分
【発行日】令和6年2月2日(2024.2.2)

【特許番号】特許第7134168号(P7134168)
【登録日】令和4年9月1日(2022.9.1)
【特許公報発行日】令和4年9月9日(2022.9.9)
【年通号数】登録公報(特許)2022-165
【出願番号】特願2019-513845(P2019-513845)
【訂正要旨】発明の詳細な説明の誤載により、下記のとおり全文を訂正する。
【国際特許分類】
Ａ６１Ｋ　31/519(2006.01)
Ａ６１Ｋ　31/4015(2006.01)
Ａ６１Ｋ　45/00(2006.01)
Ａ６１Ｐ　25/00(2006.01)
Ａ６１Ｐ　29/00(2006.01)
Ａ６１Ｐ　43/00(2006.01)
【ＦＩ】
Ａ６１Ｋ　31/519
Ａ６１Ｋ　31/4015
Ａ６１Ｋ　45/00
Ａ６１Ｐ　25/00
Ａ６１Ｐ　29/00
Ａ６１Ｐ　43/00　１１１
Ａ６１Ｐ　43/00　１２１
【記】別紙のとおり

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7134168号
(P7134168)

(45)発行日 令和4年9月9日(2022.9.9)

(24)登録日 令和4年9月1日(2022.9.1)

(51)国際特許分類

		FI	
A61K	*31/519 (2006.01)*	A61K	31/519
A61K	*31/4015 (2006.01)*	A61K	31/4015
A61K	*45/00 (2006.01)*	A61K	45/00
A61P	*25/00 (2006.01)*	A61P	25/00
A61P	*29/00 (2006.01)*	A61P	29/00

請求項の数 11 (全77頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-513845(P2019-513845)
(86)(22)出願日 平成29年9月12日(2017.9.12)
(65)公表番号 特表2019-531285(P2019-531285A)
(43)公表日 令和1年10月31日(2019.10.31)
(86)国際出願番号 PCT/US2017/051220
(87)国際公開番号 WO2018/049417
(87)国際公開日 平成30年3月15日(2018.3.15)
審査請求日 令和2年9月10日(2020.9.10)
(31)優先権主張番号 62/393,386
(32)優先日 平成28年9月12日(2016.9.12)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/412,739
(32)優先日 平成28年10月25日(2016.10.25)
最終頁に続く

(73)特許権者 507401225
イントラ－セルラー・セラピーズ・インコーポレイテッド
ＩＮＴＲＡ－ＣＥＬＬＵＬＡＲ ＴＨＥＲＡＰＩＥＳ， ＩＮＣ．
アメリカ合衆国１００１６ニューヨーク州ニューヨーク、イースト・トゥウェンティナインス・ストリート４３０番、スウィート９００
(74)代理人 100106518
弁理士 松谷 道子
(74)代理人 100156144
弁理士 落合 康
(72)発明者 グレッチェン・スナイダー
アメリカ合衆国１００１６ニューヨーク
最終頁に続く

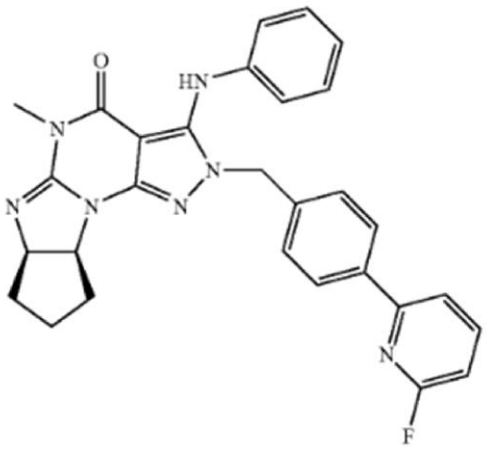
(54)【発明の名称】 新規使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

ＰＤＥ１阻害剤を含む、神経炎症の治療または予防を必要とする患者における神経炎症の治療または予防のための医薬であって、ＰＤＥ１阻害剤が、遊離塩基または薬学的に許容される塩形態の下記式：

【化１】



で示される化合物である、医薬。

【請求項２】
ＰＤＥ１阻害剤が、１０ｎＭ未満のＩＣ$_{50}$をもってＰＤＥ１の活性を阻害する、請求項１記載の医薬。
【請求項３】
ＰＤＥ１阻害剤が、ＰＤＥ１以外のＰＤＥタイプの活性を阻害しない、請求項１または２記載の医薬。
【請求項４】
ＰＤＥ１阻害剤が、ＰＤＥ１以外のＰＤＥタイプについて少なくとも１０００倍大きいＩＣ$_{50}$を有する、請求項３記載の医薬。
【請求項５】
患者が、
ａ．神経変性状態；
ｂ．脳卒中、心停止、低酸素症、脳出血または外傷性脳損傷；
ｃ．うつ病、統合失調症、心的外傷後ストレス障害、不安、注意欠陥障害および双極性疾患を包含する、異常な神経伝達物質産生および／または反応によって特徴付けられる状態；
ｄ．慢性ＣＮＳ感染症；
ｅ．化学療法の結果生じる神経炎症
から選択される、神経炎症および／もしくはミクログリア機能に関連する疾患もしくは障害に罹患している、請求項１～４いずれか１項記載の医薬。
【請求項６】
患者が、
ｆ．１種類以上の炎症誘発性サイトカインのレベル上昇；
ｇ．１種類以上の抗炎症性サイトカインのレベル減少；
ｈ．ミクログリアＭ２表現型と比べたミクログリアＭ１表現型のレベル上昇
を有する、請求項１～５いずれか１項記載の医薬。
【請求項７】
ＰＤＥ１阻害剤が、ＰＤＥ４阻害剤と組み合わせて投与される、請求項１～６いずれか１項記載の医薬。
【請求項８】
ＰＤＥ４阻害剤が、ロリプラムである、請求項７記載の医薬。
【請求項９】
ＰＤＥ１阻害剤が、遊離形態または薬学的に許容される塩形態の、選択的セロトニン再取り込み阻害剤（ＳＳＲＩ）、セロトニン・ノルエピネフリン再取り込み阻害剤（ＳＮＲＩ）、三環系抗うつ薬（ＴＣＡ）および非定型抗精神病薬から選択される、遊離形態または薬学的に許容される塩形態の、１種類以上の抗うつ薬と組み合わせて投与される、請求項１～８いずれか１項記載の医薬。
【請求項１０】
神経炎症が、脳におけるミクログリア細胞の発現および／または活性化の増加と関連する、請求項１～９いずれか１項記載の医薬。
【請求項１１】
神経炎症の治療または予防が、網膜神経節細胞の生存率によって特徴付けられる、請求項１～１０いずれか１項記載の医薬。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本願は、２０１６年９月１２日に出願された米国仮出願第６２／３９３,３８６号、および２０１６年１０月２５日に出願された米国仮出願第６２／４１２,７３９号、および２０１７年３月５日に出願された米国仮出願第６２／４６７,２１８号の利益および優先権を主張する（それぞれの内容は出典明示によりその全体として本明細書の一部を構成する）。
発明の分野
当該分野は、炎症、および／または炎症、例えば神経炎症に関連する疾患もしくは障害の治療または予防のためのホスホジエステラーゼ１（ＰＤＥ１）の阻害剤の投与に関する。
【背景技術】
【０００２】
ホスホジエステラーゼ（ＰＤＥ）の１１種類のファミリーが同定されているが、ファミリーＩのＰＤＥであるCa^{2+}－カルモジュリン依存性ホスホジエステラーゼ（ＣａＭ－ＰＤＥ）だけがCa^{2+}－カルモジュリンによって活性化され、カルシウムおよび環状ヌクレオチド（例えば、ｃＡＭＰおよびｃＧＭＰ）シグナル伝達経路を媒介することが示されている。したがって、これらのＰＤＥは、細胞内カルシウムレベルが上昇したときに刺激された状態で活性となり、環状ヌクレオチドの加水分解の増加をもたらす。公知の３種類のＣａＭ－ＰＤＥ遺伝子であるＰＤＥ１Ａ、ＰＤＥ１ＢおよびＰＤＥ１Ｃはすべて、中枢神経系組織において発現する。脳では、ＰＤＥ１Ａの主な発現は皮質および新線条体においてであり、ＰＤＥ１Ｂは新線条体、前頭前皮質、海馬および嗅結節において発現し、ＰＤＥ１Ｃはより遍在的に発現する。
【０００３】
ＰＤＥ４は炎症細胞および免疫細胞に見られる主要なｃＡＭＰ代謝酵素であり、ＰＤＥ４阻害剤は抗炎症薬として興味深いものである。しかしながら、ＰＤＥ－１は、サイトカインである顆粒球－マクロファージコロニー刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ）によって媒介される単球からマクロファージへの分化において誘導されるが、ＰＤＥ１は、炎症反応において大きな役割を果たすと考えられていない。ＰＤＥ１阻害剤であるビンポセチンは、抗炎症性であることが示されているが、ビンポセチンの抗炎症作用は、ＰＤＥ遮断よりもむしろＩκＢキナーゼ複合体（ＩＫＫ）の直接阻害によって引き起こされると考えられる。
【０００４】
ミクログリアは、ホメオスタシスを維持し、脳内の炎症を媒介する中心的な役割を果たす。ミクログリアは、ニューロンおよび星状細胞へ複雑なシグナル伝達をもって伝え、いくつの脳細胞が必要であるか、およびいつシナプスを排除するか、例えば欠陥または未使用シナプスを破壊するかを決定する。ミクログリアは、異なる状態で存在することができる：比較的不活性であるが、サーベイランス機能を果たすことができる休止状態、または機能的に異なる２つの活性化状態Ｍ１およびＭ２のうちの１つ。Ｍ１状態は、ＩＦＮ－γまたはリポ多糖（ＬＰＳ）のようなシグナルによって誘導され、ＴＮＦ－、ＩＬ－１β、および活性酸素種／活性窒素種（ＲＯＳ／ＮＯＳ）などの炎症性サイトカインを放出することによって反応する。Ｍ２状態は、抗炎症効果を有し、炎症誘発性サイトカインの放出を阻止し、デブリを取り込み、組織修復を促進し、神経栄養因子を放出する。活性化ミクログリアは、アルツハイマー病（ＡＤ）、パーキンソン病（ＰＤ）および筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）を包含するさまざまな神経変性疾患と関連しており、炎症がこれらの状態の根本的な原因であるのか影響であるのかは最終的には決定されていないがこれらの疾患の病理の一因となり得る。
【０００５】
ＰＤＥ１が脳内または他の場所で炎症性サイトカインを媒介することにおいて重要な役割を果たすこと、またはそれが炎症性疾患に対して重要な効果を有することは、これまでに示されていない。一般的な炎症過程、ならびに炎症に関連する疾患および障害は数多く

あり、そのメカニズムおよび作用は、依然として十分に理解されていない。現在、特に脳に生じる炎症に関連して、炎症および炎症関連疾患および障害の効果的な治療方法に対する需要は大部分が満たされていない。

【図面の簡単な説明】

【０００６】

【図１】図１は、ＬＰＳで処理したＢＶ２細胞におけるホスホジエステラーゼ発現を示している － ＲＮＡ配列解析。ＦＰＫＭとは、マッピングされた読み取りデータ１００万当たりのエクソン１キロベース当たりのフラグメント読み取りデータ（Fragment Reads per kilobase of exon per million reads mapped）をいう。

【０００７】

【図２】図２は、ＰＤＥ１阻害剤（化合物２１４）がＢＶ２細胞におけるＬＰＳ誘導性ＩＬ１βを抑制することを示している。

【０００８】

【図３】図３は、インビボで、ＰＤＥ１阻害剤（化合物２１４）がマウス海馬におけるＬＰＳ誘導性ＩＬ１βを抑制することを示している。

【０００９】

【図４】図４ａは、定量的ＰＣＲによって測定して、ＰＤＥ１阻害剤（化合物２１４）がＢＶ２細胞における炎症性サイトカインＩＬ１β、ＴＮＦαおよびＣｃｌ２のＬＰＳ誘導性発現増加を有意に減少させるが、ＰＤＥ４阻害剤ロリプラムは異なるプロファイルを示すことを示している。別の実験において、図４ｂは、本発明のＰＤＥ１阻害剤（化合物２１４）の投与がＢＶ２細胞における炎症誘発性マーカーのＬＰＳ誘導性変化を大幅に減少させるかまたは鈍化させることを示している（図４ｂ）。

【００１０】

【図５】図５は、ＢＶ２細胞からのＬＰＳ誘導性ＴＮＦα放出の阻害を示している。

【００１１】

【図６】図６は、ＬＰＳ刺激性ＴＮＦα ｍＲＮＡ発現のＰＤＥ１阻害剤による用量依存的減少を示している。

【００１２】

【図７】図７は、炎症誘発性サイトカイン発現のＬＰＳ誘導のＰＤＥ１阻害剤による阻害および抗炎症性サイトカイン（ＩＬ－１０）の発現の増強を示している。

【００１３】

【図８】図８は、ＰＤＥ１阻害剤（化合物２１４）がマウスにおけるＬＰＳ誘導性炎症性遺伝子発現変化を防止することを示している。成体マウスを、ビヒクル（白色の棒）、５００μｇ／ｋｇのＬＰＳ（皮下）（灰色の棒）、または１０ｍｇ／ｋｇのＩＴＩ－２１４（腹腔内）および５００μｇ／ｋｇのＬＰＳ（皮下）（黒色の棒）で２時間処理する（ｎ＝４）。ＴＮＦ、ＩＬ１β、Ｃｃｌ２およびＩＬ６のｍＲＮＡレベルについて線条体組織を分析する。発現レベルは、Ｑ－ＰＣＲシグナルのビヒクルからの変化（ΔΔＣｔ）として示され、ＡＮＯＶＡを用いて比較される。* ｐ＜０.０５、** ｐ＜０.０１、*** ｐ＜０.００１。

【００１４】

【図９】図９は、ＬＰＳおよびＩＴＩ－２１４に対する共通の反応パターンを有する選択された遺伝子の発現レベル（ＦＰＫＭ）を示している。ＢＶ２細胞を、ＬＰＳ、ＩＴＩ－２１４、またはＬＰＳ＋ＩＴＩ－２１４で処理する。

【００１５】

【図１０ａ】図１０ａは、５０ｎｇ／ｍｌのＬＰＳおよび示された用量のＩＴＩ－２１４（２１４と略する）によるＢＶ２細胞における各遺伝子の発現レベルの変化を示している。

【００１６】

【図１０ｂ】図１０ｂは、ＬＰＳ刺激の不在下でのＩＴＩ－２１４の用量依存的効果を示している。図１０ａについては、棒は、Ｘ軸上に示される特定の遺伝子ごとに、左から右へ、ＬＰＳ、０.１μＭの２１４＋ＬＰＳ、０.４μＭの２１４＋ＬＰＳ、１.１μＭの２１

４＋ＬＰＳ、３.３μＭの２１４＋ＬＰＳ、１０μＭの２１４＋ＬＰＳで処理された試料を示す。図１０ｂについては、棒は、Ｘ軸上に示される特定の遺伝子ごとに、左から右へ、０.０４μＭの２１４、０.１μＭの２１４、０.４μＭの２１４、１.１μＭの２１４、３.３μＭの２１４、１０μＭの２１４で処理された試料を示す。

【００１７】

【図１１ａ】図１１ａは、本発明のＰＤＥ１阻害剤（化合物２１４）のｃＧＭＰ依存性活性、心房性ナトリウム利尿ペプチド（ＡＮＰ）による粒子状グアニリルシクラーゼ活性または一酸化窒素供与体ＤＥＡＮＯによる可溶性グアニリルシクラーゼ活性が刺激され得る。各遺伝子について、棒は、左から右へ、ＬＰＳ、３.３μＭの２１４、１０μＭの２１４、フォルスコリン、およびＤＥＡＮＯによる処理を示す。

【００１８】

【図１１ｂ】図１１ｂは、ＬＰＳ刺激、ＰＤＥ１のＩＴＩ－２１４阻害、およびＰＫＡ阻害剤（ｃＡＭＰＳ－Ｒｐ）（１００μＭ）またはＰＫＧ阻害剤（－８－Ｂｒ－ＰＥＴ－ｃＧＭＰＳ）（１００μＭ）を組み合わせることによるＩＴＩ－２１４反応に対する各環状ヌクレオチド（ｃＡＭＰまたはｃＧＭＰ）の影響を示している。図１１ｂについて、棒は、左から右へ、ＬＰＳ、３.３μＭの２１４、１０μＭの２１４、ｃＡＭＰＳ－Ｒｐ、およびＲＰ－８－Ｂｒ－ＰＥＴ－ｃＧＭＰＳによって処理された試料を示す。

【００１９】

【図１２】図１２は、実施例１０に記載の視覚損傷モデルにおいて、ＰＢＳ対照と比較した場合、試験したＰＤＥ１阻害剤が網膜神経節細胞の生存を増加させるのに非常に有効であることを示している。

【発明の概要】

【００２０】

驚くべきことに、本発明者らは、ＰＤＥ１がある種の炎症誘発性サイトカインおよびケモカインの発現を媒介すること、およびＰＤＥ１阻害剤がＰＤＥ４阻害剤の抗炎症効果とは異なる特異的な抗炎症効果を有することを発見した。一の態様において、ＰＤＥ１の阻害は、ミクログリアにおける炎症活性を調節し、ＰＤＥ４阻害とは異なるプロファイルを有する炎症誘発性遺伝子の発現を減少させ、それにより、毒性神経炎症の新規治療法を提供する。

【００２１】

細胞内環状ヌクレオチドレベルの上昇によるミクログリアにおける炎症反応の負の調節は、治療介入のための有望な分野を提供する。ミクログリアにおける環状グアノシン一リン酸（ｃＧＭＰ）は、心房性ナトリウム利尿受容体または可溶性グアニリルシクラーゼの活性化によって産生され、ホスホジエステラーゼ（ＰＤＥ）によって加水分解される。産生を刺激することまたは加水分解を阻害することのいずれかによる細胞内ｃＧＭＰの増加は、ミクログリアにおけるＬＰＳ誘導性反応を減弱させることが示されている。加えて、ｃＧＭＰは、ミクログリアのＬＰＳ誘導性運動において役割を果たすことが示されている。環状アデノシン一リン酸（ｃＡＭＰ）もまた、炎症反応の重要な調節因子である。ＬＰＳおよびサイトカイン刺激は、ＰＤＥ４Ｂの発現を増加させ、ｃＡＭＰを減少させることが示されている。ＰＤＥは、立証されたドラッガブル標的（proven drug-able targets）である。ＰＤＥ１Ｂがミクログリアにおいて発現するＰＤＥ１ファミリーの酵素は、ｃＡＭＰおよびｃＧＭＰの両方を加水分解し、カルシウムによって活性化される。

【００２２】

本発明の化合物のＰＤＥ１酵素標的が果たす役割のうち、ＰＤＥ１Ｂアイソフォームは、ミクログリアに多量に見られ、そこでは、それは、特に細胞内カルシウム上昇の条件下で、炎症反応を制御する役割を果たし得る。これは、ＩＴＩ－２１４が、例えば慢性神経炎症に関連する疾患に有益であることを証明するかもしれないことを示唆している。

【００２３】

したがって、一の実施態様において、本発明は、炎症、および／または炎症に関連する疾患もしくは障害を治療するために種々のＰＤＥ１阻害化合物を使用することを提供する

。炎症は神経炎症であり得、一の実施態様において、ＰＤＥ１阻害剤は脳におけるミクログリア活性化を特異的に調節することができる。本発明者らは、驚くべきことに、本明細書に記載のＰＤＥ１阻害剤の投与により、ある種の炎症バイオマーカー（例えば、ＩＬ１β、ＴＮＦαおよびＣｃｌ２）のＬＰＳ誘導性発現が鈍化し得るかまたは減少し得ることを発見した。この発見は、種々の炎症バイオマーカーの発現に関連するかまたは該発現と相関がある炎症性疾患および障害を治療するための広範囲の用途を有する。

【００２４】

理論に束縛されるものではないが、この活性の１つの可能なメカニズムは、ＩＬ－１０のような抗炎症性サイトカインのアップレギュレーションを介して、Ｍ１活性化および炎症誘発性サイトカインの放出を減少させるように、また、Ｍ２ミクログリアの作用を増強するように、ＰＤＥ１Ｂの阻害が血液におけるマクロファージ活性化および／またはＣＮＳにおけるミクログリア活性化に影響を及ぼし得ることである。ＣＮＳ病理における神経炎症およびミクログリア機能の役割は完全には理解されていないが、本発明者らは、以下のものを包含するさまざまな状態に関連していると仮定している：

ａ．神経変性状態、例えば、アルツハイマー病（ＡＤ）、パーキンソン病（ＰＤ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、および脱髄性状態、例えば多発性硬化症（ＭＳ）、およびプリオン病；

ｂ．脳卒中、心停止、低酸素症、脳出血または外傷性脳損傷に起因する損傷の修復；

ｃ．うつ病、統合失調症、心的外傷後ストレス障害、不安、注意欠陥障害および双極性疾患を包含する、異常な神経伝達物質産生および／または反応によって特徴付けられる状態；例えば、上記のいずれかが神経炎症に関連している場合；

ｄ．慢性ＣＮＳ感染症、例えばライム病、梅毒、または免疫抑制状態の結果生じるＣＮＳ感染症、例えばＨＩＶ認知症；

ｅ．化学療法の結果生じる神経炎症。

【００２５】

本発明の化合物により標的とされる、脳内のＰＤＥ１の阻害は、ミクログリア活性化に影響を及ぼし、損傷を与える炎症誘発性サイトカインシグナル伝達を減少させ、同時に、抗炎症性サイトカインならびにミクログリア運動および動員に関与する因子の産生を増加させると考えられる。

【００２６】

したがって、一の実施態様において、本発明は、Ｉ型ホスホジエステラーゼの特異的阻害剤（例えば、ＰＤＥ１阻害剤、例えば、ＰＤＥ１Ｂ阻害剤）（例えば、本明細書に記載の式Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、ＶＩ、ＶＩＩ、ＶＩＩＩ、ＩＸ、Ｘ、ＸＩおよび／またはＸＩＩのＰＤＥ１阻害剤）の投与により寛解され得る炎症または炎症に関連する疾患の新規の治療方法または予防方法を提供する。

【００２７】

一の実施態様において、本発明は、例えば、

ａ．神経変性状態、例えばアルツハイマー病（ＡＤ）、パーキンソン病（ＰＤ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、および脱髄性状態、例えば多発性硬化症（ＭＳ）、およびプリオン病；

ｂ．脳卒中、心停止、低酸素症、脳出血または外傷性脳損傷；

ｃ．うつ病、統合失調症、心的外傷後ストレス障害、不安、注意欠陥障害および双極性疾患を包含する、異常な神経伝達物質産生および／または反応によって特徴付けられる状態；例えば、上記のいずれかが神経炎症に関連している場合；および

ｄ．慢性ＣＮＳ感染症、例えばライム病、または免疫抑制状態の結果生じるＣＮＳ感染症、例えばＨＩＶ認知症；

ｅ．化学療法の結果生じる神経炎症

から選択される、神経炎症、ならびに／または神経炎症および／もしくはミクログリア機能に関連する疾患または障害の治療方法であって、該治療を必要とする患者に、本発明のＰＤＥ１阻害剤（例えば、本明細書に記載の式Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、ＶＩ、ＶＩ

Ｉ、ＶＩＩＩ、ＩＸ、Ｘ、ＸＩおよび／またはＸＩＩのＰＤＥ１阻害剤）の有効量、例えば（ｉ）Ｍ１ミクログリアの活性化の軽減または阻害に有効な量および／または（ｉｉ）１種類以上の炎症誘発性サイトカイン（例えば、ＩＬ１β、ＴＮＦαおよびＣｃｌ２、またはそれらの組合せ）のレベルの減少に有効な量を投与することを含む治療方法を提供する。

【００２８】

一の実施態様において、本発明のＰＤＥ１阻害剤（例えば、本明細書に記載の式Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、ＶＩ、ＶＩＩ、ＶＩＩＩ、ＩＸ、Ｘ、ＸＩおよび／またはＸＩＩのＰＤＥ１阻害剤）は、１種類以上の炎症誘発性サイトカイン（例えば、ＩＬ１β、ＴＮＦαおよびＣｃｌ２、またはそれらの組合せ）のレベルが上昇している患者、例えば、例えば、

ａ．神経変性状態、例えばアルツハイマー病（ＡＤ）、パーキンソン病（ＰＤ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、および脱髄性状態、例えば多発性硬化症（ＭＳ）、およびプリオン病；

ｂ．脳卒中、心停止、低酸素症、脳出血または外傷性脳損傷；

ｃ．うつ病、統合失調症、心的外傷後ストレス障害、不安、注意欠陥障害および双極性疾患を包含する、異常な神経伝達物質産生および／または反応によって特徴付けられる状態；例えば、上記のいずれかが神経炎症に関連している場合；および

ｄ．慢性ＣＮＳ感染症、例えばライム病、または免疫抑制状態の結果生じるＣＮＳ感染症、例えばＨＩＶ認知症；

ｅ．化学療法の結果生じる神経炎症

から選択される、神経炎症、ならび／または神経炎症および／もしくはミクログリア機能に関連する疾患または障害に罹患している患者に投与される。

【００２９】

本発明のさらなる実施態様は、以下の詳細な説明および実施例に記載されているか、またはそれらから明白である。

【発明を実施するための形態】

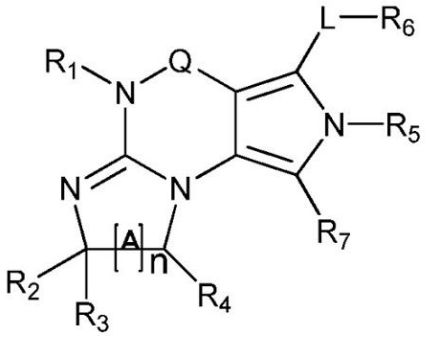
【００３０】

発明の詳細な説明

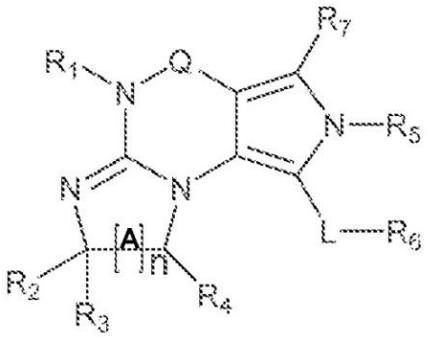
本発明の方法で使用するための化合物

一の実施態様において、本明細書に記載の治療方法および予防方法に使用するためのＰＤＥ１阻害剤は、置換されていてもよい４,５,７,８－テトラヒドロ－２Ｈ－イミダゾ[１,２－ａ]ピロロ[３,４－ｅ]ピリミジンまたは４,５,７,８,９－ペンタヒドロ－２Ｈ－ピリミド[１,２－ａ]ピロロ[３,４－ｅ]ピリミジン、例えば式ＩＩ、例えば遊離形態または塩形態の式ＩＩ－Ａまたは式ＩＩ－Ｂで示される化合物である：一の実施態様において、本明細書に記載の治療方法および予防方法に使用するためのＰＤＥ１阻害剤は、置換されていてもよい４,５,７,８－テトラヒドロ－２Ｈ－イミダゾ[１,２－ａ]ピロロ[３,４－ｅ]ピリミジンまたは４,５,７,８,９－ペンタヒドロ－２Ｈ－ピリミド[１,２－ａ]ピロロ[３,４－ｅ]ピリミジン、例えば式ＩＩ、例えば遊離形態または塩形態の式ＩＩ－Ａまたは式ＩＩ－Ｂで示される化合物である：

【化１】



または



式 II-A　　式 II-B

式中、

（ｉ）Ｑは、Ｃ(＝Ｏ)、Ｃ(＝Ｓ)、Ｃ(＝Ｎ(Ｒ$_{20}$))またはＣＨ$_2$であり；

（ｉｉ）Ｌは、単結合、－Ｎ(Ｈ)－、－ＣＨ$_2$－、－Ｓ－、－Ｓ(Ｏ)－または－Ｓ(Ｏ$_2$)－であり；

（ｉｉｉ）Ｒ$_1$は、ＨまたはＣ$_{1-4}$アルキル（例えば、メチル）であり；

（ｉｖ）Ｒ$_4$は、ＨまたはＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、メチルまたはイソプロピル）であり、Ｒ$_2$およびＲ$_3$は、独立して、

Ｈ

ハロまたはヒドロキシで置換されていてもよい、Ｃ$_{1-6}$アルキル（例えば、メチル、イソプロピル）（例えば、Ｒ$_2$およびＲ$_3$はともにメチルであるか、またはＲ$_2$はＨであり、Ｒ$_3$はメチル、エチル、イソプロピルまたはヒドロキシエチルである）、

アリール、

ヘテロアリール、

(所望によりヘテロ)アリールアルコキシ、

(所望によりヘテロ)アリールＣ$_{1-6}$アルキル

であるか；または

Ｒ$_2$およびＲ$_3$は一緒になって、３～６員環を形成するか；

または

Ｒ$_2$はＨであり、Ｒ$_3$およびＲ$_4$は一緒になってジメチレン架橋、トリメチレン架橋またはテトラメチレン架橋を形成するか

（好ましくは、Ｒ$_3$およびＲ$_4$は一緒にシス配置を有し、例えば、Ｒ$_3$およびＲ$_4$を担持する炭素はそれぞれＲ配置およびＳ配置を有する）；

または

（ｖ）Ｒ$_5$は、

ａ）－Ｄ－Ｅ－Ｆ（式中：

Ｄは、Ｃ$_{1-4}$アルキレン（例えば、メチレン、エチレンまたはプロパ－２－イン－１－イレン）であり；

Ｅは、単結合、Ｃ$_{2-4}$アルキニレン（例えば、－Ｃ≡Ｃ－）、アリーレン（例えば、フェニレン）またはヘテロアリーレン（例えば、ピリジレン）であり；

Ｆは、

Ｈ、

アリール（例えば、フェニル）、

ヘテロアリール（例えば、ピリジル、ジアゾリル、トリアゾリル、例えば、ピリド－２－イル、イミダゾール－１－イル、１,２,４－トリアゾール－１－イル）、

ハロ（例えば、Ｆ、Ｂｒ、Ｃｌ）、

ハロＣ$_{1-4}$アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、

－Ｃ(Ｏ)－Ｒ$_{15}$、

－Ｎ(Ｒ$_{16}$)(Ｒ$_{17}$)、または

ＮまたはＯからなる群から選択される少なくとも１個の原子を含有していてもよいＣ$_{3-7}$シクロアルキル（例えば、シクロペンチル、シクロヘキシル、ピロリジニル（例えば、ピロリジン－３－イル）、テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル、またはモルホリニル）

であり；

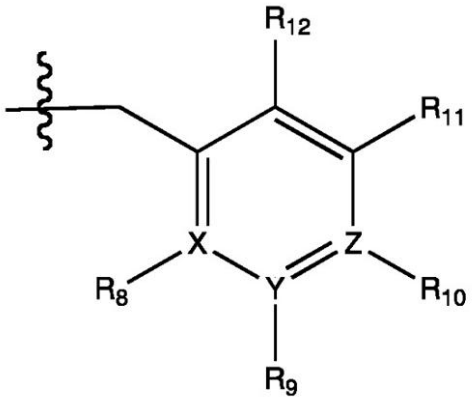
ここで、Ｄ、ＥおよびＦは、独立して、１個以上のハロ（例えば、Ｆ、ＣｌまたはＢｒ）、Ｃ$_{1-4}$アルキル（例えば、メチル）、ハロＣ$_{1-4}$アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、Ｃ$_{1-4}$アルコキシ（例えば、メトキシ）、ヒドロキシ、Ｃ$_{1-4}$カルボキシ、またはさらなるアリールもしくはヘテロアリール（例えば、ビフェニルまたはピリジルフェニル）で置換されていてもよく、

例えば、Ｆは、ヘテロアリール、例えば、１個以上のハロ（例えば、６－フルオロピリド－２－イル、５－フルオロピリド－２－イル、６－フルオロピリド－２－イル、３－フルオロピリド－２－イル、４－フルオロピリド－２－イル、４,６－ジクロロピリド－２－イル）、ハロＣ$_{1-4}$アルキル（例えば、５－トリフルオロメチルピリド－２－イル）またはＣ$_{1-4}$アルキル（例えば、５－メチルピリド－２－イル）で置換されているピリジルであるか、またはＦは、アリール、例えば、１個以上のハロで置換されているフェニル（例えば、４－フルオロフェニル）であるか、またはＦは、Ｃ$_{1-6}$アルキルで置換されていてもよいＣ$_{3-7}$ヘテロシクロアルキル（例えば、ピロリジニル）（例えば、１－メチルピロリジン－３－イル）である）；または

ｂ）例えばハロＣ$_{1-4}$アルキルで置換されている、置換ヘテロアリールアルキル；

ｃ）式ＩＩ－Ａまたは式ＩＩ－Ｂのピロロ部分の窒素と結合しており、式Ａ：

【化２】



式Ａ

（式中、Ｘ、ＹおよびＺは、独立して、ＮまたはＣであり、Ｒ$_{8}$、Ｒ$_{9}$、Ｒ$_{11}$およびＲ$_{12}$は、独立して、Ｈまたはハロゲン（例えば、ＣｌまたはＦ）であり、Ｒ$_{10}$は、

ハロゲン、

Ｃ$_{1-4}$アルキル、

ハロＣ$_{1-4}$アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、

Ｃ$_{1-4}$アルコキシ（例えば、メトキシ）、

Ｃ$_{3-7}$シクロアルキル、

ヘテロＣ$_{3-7}$シクロアルキル（例えば、ピロリジニルまたはピペリジニル）、

Ｃ$_{1-4}$ハロアルキル（例えば、トリフルオロメチル）、

アリール（例えば、フェニル）、

ヘテロアリール（例えば、ピリジル（例えば、ピリド－２－イルまたはピリド－４－イル）、またはチアジアゾリル（例えば、１,２,３－チアジアゾール－４－イル））、ジアゾリル（例えば、イミダゾール－１－イル）、トリアゾリル（例えば、１,２,４－トリアゾール－１－イル）、テトラゾリル、

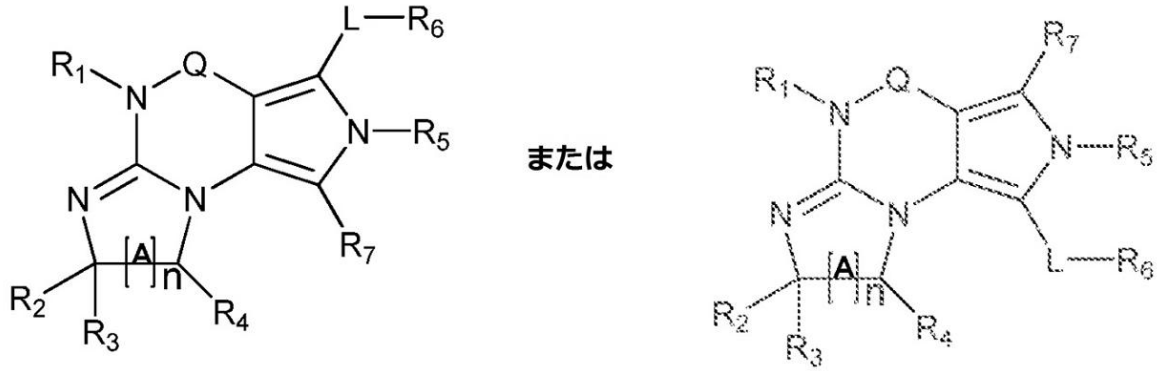
アリールカルボニル（例えば、ベンゾイル）、
アルキルスルホニル（例えば、メチルスルホニル）、
ヘテロアリールカルボニル、または
アルコキシカルボニル
であり、
ここで、該アリール、ヘテロアリール、シクロアルキルまたはヘテロシクロアルキルは、独立して、１個以上のC_{1-4}アルキル（例えば、メチル）、ハロゲン（例えば、クロロまたはフルオロ）、ハロC_{1-4}アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、ヒドロキシ、C_{1-4}カルボキシ、－ＳＨまたはさらなるアリール、ヘテロアリール（例えば、ビフェニルまたはピリジルフェニル）またはC_{3-8}シクロアルキルで置換されていてもよく、
好ましくは、R_{10}は、上記で定義された置換基で置換されていてもよい、例えばハロまたはアルキルで置換されていてもよい、フェニル、ピリジル、ピペリジニルまたはピロリジニルであり、
ただし、Ｘ、ＹまたはＺが窒素である場合、R_8、R_9またはR_{10}は、それぞれ、存在しない）
で示される部分
であり；
（ｖｉ）R_6は、
Ｈ、
C_{1-4}アルキル（例えば、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソブチル）、
C_{3-7}シクロアルキル（例えば、シクロペンチルまたはシクロヘキシル）、
ヘテロC_{3-7}シクロアルキル（例えば、ピロリジニル、ピペリジニル、モルホリニル）、
アリール（例えば、フェニル）、
ヘテロアリール（例えば、ピリド－４－イル）、
アリールC_{1-4}アルキル（例えば、ベンジル）、
アリールアミノ（例えば、フェニルアミノ）、
ヘテロアリールアミノ、
Ｎ,Ｎ－ジC_{1-4}アルキルアミノ、
Ｎ,Ｎ－ジアリールアミノ、
Ｎ－アリール－Ｎ－(アリールC_{1-4}アルキル)アミノ（例えば、Ｎ－フェニル－Ｎ－(１,１'－ビフェン－４－イルメチル)アミノ）、または
－Ｎ(R_{18})(R_{19})
であり、
ここで、該アリールおよびヘテロアリールは、１つ以上のC_{1-4}アルキル（例えば、メチル）、ハロゲン（例えば、クロロまたはフルオロ）、ハロC_{1-4}アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、ヒドロキシ、C_{1-4}カルボキシ、またはさらなるアリール、ヘテロアリール（例えば、ビフェニルまたはピリジルフェニル）またはC_{3-8}シクロアルキルで置換されていてもよく；
（ｖｉｉ）R_7は、Ｈ、C_{1-6}アルキル（例えば、メチルまたはエチル）、ハロゲン（例えば、Ｃｌ）、－Ｎ(R_{18})(R_{19})、ヒドロキシまたはC_{1-6}アルコキシであり；
（ｖｉｉｉ）ｎ＝０または１であり；
（ｉｘ）ｎ＝１である場合、Ａは、－Ｃ($R_{13}R_{14}$)－であり、ここで、R_{13}およびR_{14}は、独立して、Ｈ、またはC_{1-4}アルキル、アリール、ヘテロアリール、(所望によりヘテロ)アリールC_{1-4}アルコキシ、(所望によりヘテロ)アリールC_{1-4}アルキルであるか、またはR_{14}は、R_2もしくはR_4と架橋を形成することができ；
（ｘ）R_{15}は、C_{1-4}アルキル、ハロC_{1-4}アルキル、－ＯＨまたは－ＯC_{1-4}アルキル（例えば、－ＯＣＨ$_3$）であり；
（ｘｉ）R_{16}およびR_{17}は、独立して、ＨまたはC_{1-4}アルキルであり；
（ｘｉｉ）R_{18}およびR_{19}は、独立して、

Ｈ、
Ｃ$_{1-4}$アルキル（例えば、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソブチル）、
Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル（例えば、シクロヘキシルまたはシクロペニル）、
ヘテロＣ$_{3-8}$シクロアルキル（例えば、ピロリジニル、ピペリジニル、モルホリニル）、
アリール（例えば、フェニル）または
ヘテロアリール（例えば、ピリジル）
であり、
ここで、該アリールおよびヘテロアリールは、１つ以上の、
ハロ（例えば、フルオロフェニル、例えば、４－フルオロフェニル）、
ヒドロキシ（例えば、ヒドロキシフェニル、例えば、４－ヒドロキシフェニルまたは２－ヒドロキシフェニル）、
Ｃ$_{1-4}$アルキル（例えば、メチル）、
ハロＣ$_{1-4}$アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、
Ｃ$_{1-4}$カルボキシ、または
さらなるアリール、ヘテロアリール（例えば、ビフェニルまたはピリジルフェニル）またはＣ$_{3-8}$シクロアルキル
で置換されていてもよく、
（ｘｉｉｉ）Ｒ$_{20}$は、Ｈ、Ｃ$_{1-4}$アルキルまたはＣ$_{3-7}$シクロアルキルである。

【００３１】

別の実施態様において、本明細書に記載の治療方法および予防方法に使用するためのＰＤＥ１阻害剤は、式Ｉ、例えば遊離形態または塩形態の式Ｉ－Ａおよび式Ｉ－Ｂで示される化合物である：

【化３】

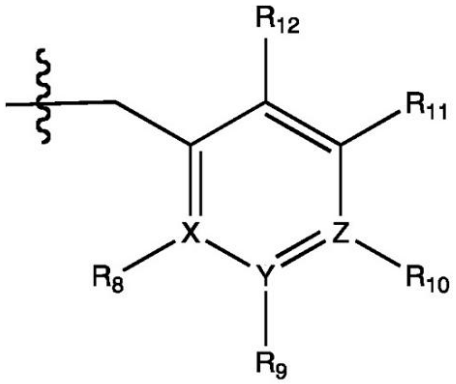


式I-A　　式I-B

式中、
（ｉ）Ｑは、Ｃ(＝Ｏ)、Ｃ(＝Ｓ)、Ｃ(＝Ｎ(Ｒ$_{20}$))またはＣＨ$_2$であり；
（ｉｉ）Ｌは、単結合、－Ｎ(Ｈ)－、－ＣＨ$_2$－、－Ｓ－、－Ｓ(Ｏ)－または－Ｓ(Ｏ$_2$)－であり；
（ｉｉｉ）Ｒ$_1$は、ＨまたはＣ$_{1-4}$アルキル（例えば、メチル）であり；
（ｉｖ）Ｒ$_4$は、ＨまたはＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、メチルまたはイソプロピル）であり、Ｒ$_2$およびＲ$_3$は、独立して、
Ｈ、またはハロもしくはヒドロキシで置換されていてもよい、Ｃ$_{1-6}$アルキル（例えば、メチル、イソプロピル）（例えば、Ｒ$_2$およびＲ$_3$はともにメチルであるか、またはＲ$_2$は、Ｈであり、Ｒ$_3$は、メチル、エチル、イソプロピルまたはヒドロキシエチルである）、
アリール、
ヘテロアリール、
(所望によりヘテロ)アリールアルコキシ、または

(所望によりヘテロ)アリールC_{1-6}アルキル
であるか；
または
R_2はHであり、R_3およびR_4は一緒になってジメチレン架橋、トリメチレン架橋またはテトラメチレン架橋を形成し
（好ましくは、R_3およびR_4は一緒にシス配置を有し、例えば、R_3およびR_4を担持する炭素はそれぞれR配置およびS配置を有する）；
（ｖ）R_5は、
ａ）－Ｄ－Ｅ－Ｆ（式中、
Ｄは、C_{1-4}アルキレン（例えば、メチレン、エチレンまたはプロパ－２－イン－１－イレン）であり；
Ｅは、単結合、C_{2-4}アルキニレン（例えば、－Ｃ≡Ｃ－）、アリーレン（例えば、フェニレン）またはヘテロアリーレン（例えば、ピリジレン）であり；
Ｆは、
Ｈ、
アリール（例えば、フェニル）、
ヘテロアリール（例えば、ピリジル、ジアゾリル、トリアゾリル、例えば、ピリド－２－イル、イミダゾール－１－イル、１,２,４－トリアゾール－１－イル）、
ハロ（例えば、Ｆ、Ｂｒ、Ｃｌ）、
ハロC_{1-4}アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、
－Ｃ(Ｏ)－R_{15}、
－Ｎ(R_{16})(R_{17})、または
ＮまたはＯからなる群から選択される少なくとも１個の原子を含有していてもよいC_{3-7}シクロアルキル（例えば、シクロペンチル、シクロヘキシル、ピロリジニル（例えば、ピロリジン－３－イル）、テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル、またはモルホリニル）
であり；
ここで、Ｄ、ＥおよびＦは、独立して、１個以上のハロ（例えば、Ｆ、ＣｌまたはＢｒ）、C_{1-4}アルキル（例えば、メチル）、ハロC_{1-4}アルキル（例えば、トリフルオロメチル）で置換されていてもよく、例えば、Ｆは、ヘテロアリール、例えば、１個以上のハロ（例えば、６－フルオロピリド－２－イル、５－フルオロピリド－２－イル、６－フルオロピリド－２－イル、３－フルオロピリド－２－イル、４－フルオロピリド－２－イル、４,６－ジクロロピリド－２－イル）、ハロC_{1-4}アルキル（例えば、５－トリフルオロメチルピリド－２－イル）またはC_{1-4}アルキル（例えば、５－メチルピリド－２－イル）で置換されているピリジルであるか、またはＦは、アリール、例えば、１個以上のハロで置換されているフェニル（例えば、４－フルオロフェニル）であるか、またはＦは、C_{1-6}アルキルで置換されていてもよいC_{3-7}ヘテロシクロアルキル（例えば、ピロリジニル）（例えば、１－メチルピロリジン－３－イル）である）；または
ｂ）例えばハロアルキルで置換されている、置換ヘテロアリールアルキル；
ｃ）式Ｉ－Ａまたは式Ｉ－Ｂのピロロ部分の窒素と結合しており、式Ａ：

【化４】



式Ａ

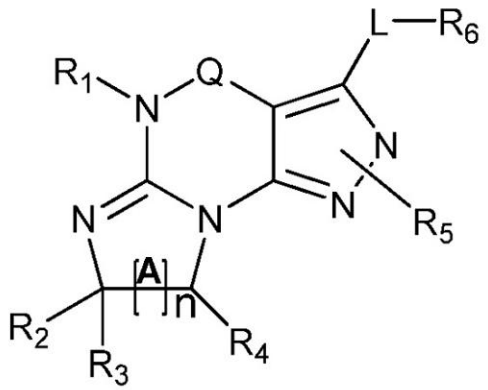
（式中、Ｘ、ＹおよびＺは、独立して、ＮまたはＣであり、R_8、R_9、R_{11}およびR_{12}は、独立して、Ｈまたはハロゲン（例えば、Ｃｌまたは Ｆ）であり、R_{10}は、
ハロゲン、
C_{1-4}アルキル、
C_{3-7}シクロアルキル、
C_{1-4}ハロアルキル（例えば、トリフルオロメチル）、
アリール（例えば、フェニル）、
ヘテロアリール（例えば、ピリジル（例えば、ピリド－２－イル）、またはチアジアゾリル（例えば、１,２,３－チアジアゾール－４－イル））、ジアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、
アリールカルボニル（例えば、ベンゾイル）、
アルキルスルホニル（例えば、メチルスルホニル）、
ヘテロアリールカルボニル、または
アルコキシカルボニル
であり；
ただし、Ｘ、ＹまたはＺが窒素である場合、R_8、R_9またはR_{10}は、それぞれ存在しない）
で示される部分
であり；
（ｖｉ）R_6は、
Ｈ、
C_{1-4}アルキル、
C_{3-7}シクロアルキル（例えば、シクロペンチル）、
アリール（例えば、フェニル）、
ヘテロアリール（例えば、ピリド－４－イル）、
アリールC_{1-4}アルキル（例えば、ベンジル）、
アリールアミノ（例えば、フェニルアミノ）、
ヘテロアリールアミノ、
Ｎ,Ｎ－ジC_{1-4}アルキルアミノ、
Ｎ,Ｎ－ジアリールアミノ、
Ｎ－アリール－Ｎ－(アリールC_{1-4}アルキル)アミノ（例えば、Ｎ－フェニル－Ｎ－(１,１'－ビフェン－４－イルメチル)アミノ）、または
－Ｎ(R_{18})(R_{19})
であり；
ここで、該アリールまたはヘテロアリールは、１個以上のハロ（例えば、Ｆ、Ｃｌ）、ヒドロキシまたはC_{1-6}アルコキシで置換されていてもよく；

（ｖｉｉ）R_7は、Ｈ、C_{1-6}アルキル、ハロゲン（例えば、Ｃｌ）、－Ｎ(R_{18})(R_{19})であり；
（ｖｉｉｉ）ｎ＝０または１であり；
（ｉｘ）ｎ＝１である場合、Ａは、－Ｃ($R_{13}R_{14}$)－であり、ここで、R_{13}およびR_{14}は、独立して、Ｈ、またはC_{1-4}アルキル、アリール、ヘテロアリール、(所望によりヘテロ)アリールC_{1-4}アルコキシもしくは(所望によりヘテロ)アリールC_{1-4}アルキルであり；
（ｘ）R_{15}は、C_{1-4}アルキル、ハロC_{1-4}アルキル、－ＯＨまたは－ＯC_{1-4}アルキル（例えば、－ＯＣH_3）であり；
（ｘｉ）R_{16}およびR_{17}は、独立して、ＨまたはC_{1-4}アルキルであり；
（ｘｉｉ）R_{18}およびR_{19}は、独立して、Ｈ、C_{1-4}アルキルまたはアリール（例えば、フェニル）であり、ここで、該アリールは、１個以上のハロ（例えば、フルオロフェニル、例えば、４－フルオロフェニル）またはヒドロキシ（例えば、ヒドロキシフェニル、例えば、４－ヒドロキシフェニルまたは２－ヒドロキシフェニル）で置換されていてもよく；
（ｘｉｉｉ）R_{20}は、Ｈ、C_{1-4}アルキルまたはC_{3-7}シクロアルキルである。
１.１　化合物が、固定化金属親和性粒子試薬ＰＤＥアッセイにて、例えば１μＭ未満、好ましくは７５０ｎＭ未満、より好ましくは５００ｎＭ未満、より好ましくは５０ｎＭ未満のIC_{50}をもって、ｃＧＭＰのホスホジエステラーゼ媒介（例えば、ＰＤＥ１媒介、特に、ＰＤＥ１Ｂ媒介）加水分解を阻害する、遊離形態または塩形態の上記式のいずれか。

【００３２】

本発明は、また、遊離形態または塩形態の、置換されていてもよい４,５,７,８－テトラヒドロ－(所望により、４－チオキソまたは４－イミノ)－(１Ｈまたは２Ｈ)－イミダゾ[１,２－ａ]ピラゾロ[４,３－ｅ]ピリミジンまたは４,５,７,８,９－ペンタヒドロ－(１Ｈまたは２Ｈ)－ピリミド[１,２－ａ]ピラゾロ[４,３－ｅ]ピリミジン化合物、例えば、(１または２および／または３および／または５)－置換の、４,５,７,８－テトラヒドロ－１Ｈ－イミダゾ[１,２－ａ]ピラゾロ[４,３－ｅ]ピリミジン、４,５,７,８－テトラヒドロ－２Ｈ－イミダゾ[１,２－ａ]ピラゾロ[４,３－ｅ]ピリミジン、４,５,７,８－テトラヒドロ－(１Ｈまたは２Ｈ)－ピリミド[１,２－ａ]ピラゾロ[４,３－ｅ]ピリミジン－４(５Ｈ)－イミン、７,８－ジヒドロ－１Ｈ－イミダゾ[１,２－ａ]ピラゾロ[４,３－ｅ]ピリミジン－４(５Ｈ)－チオンまたは７,８－ジヒドロ－２Ｈ－イミダゾ[１,２－ａ]ピラゾロ[４,３－ｅ]ピリミジン－４(５Ｈ)－チオン化合物、例えば、遊離形態または塩形態の式ＩＩＩで示される化合物を提供する：

【化５】

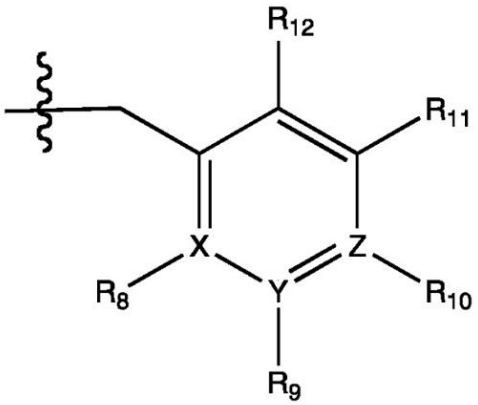


式 III

[式中、
（ｘｉｖ）Ｑは、Ｃ(＝Ｓ)、Ｃ(＝Ｎ(R_{20}))またはＣH_2であり；
（ｘｖ）Ｌは、単結合、－Ｎ(Ｈ)－、－ＣH_2－であり；

（ｘｖｉ）R_1は、ＨまたはC_{1-4}アルキル（例えば、メチルまたはエチル）であり；
（ｘｖｉｉ）R_4は、ＨまたはC_{1-6}アルキル（例えば、メチル、イソプロピル）であり、R_2およびR_3は、独立して、
Ｈ、またはハロもしくはヒドロキシで置換されていてもよいC_{1-6}アルキル（例えば、メチルまたはイソプロピル）（例えば、R_2およびR_3はともにメチルであるか、またはR_2はＨであり、R_3はメチル、エチル、イソプロピルまたはヒドロキシエチルである）、
アリール、
ヘテロアリール、
(所望によりヘテロ)アリールアルコキシ、
(所望によりヘテロ)アリールC_{1-6}アルキル
であるか、または
R_2およびR_3は一緒になって３～６員環を形成するか；
または
R_2は、Ｈであり、R_3およびR_4は一緒になってジメチレン架橋、トリメチレン架橋またはテトラメチレン架橋を形成し
（好ましくは、R_3およびR_4は一緒にシス配置を有し、例えば、R_3およびR_4を担持する炭素はそれぞれＲ配置およびＳ配置を有する）；
（ｘｖｉｉｉ）R_5は、
ｄ）－Ｄ－Ｅ－Ｆ（式中、
Ｄは、C_{1-4}アルキレン（例えば、メチレン、エチレンまたはプロパ－２－イン－１－イレン）であり；
Ｅは、単結合、C_{2-4}アルキニレン（例えば、－Ｃ≡Ｃ－）、アリーレン（例えば、フェニレン）またはヘテロアリーレン（例えば、ピリジレン）であり；
Ｆは、
Ｈ、
アリール（例えば、フェニル）、
ヘテロアリール（例えば、ピリジル、ジアゾリル、トリアゾリル、例えば、ピリド－２－イル、イミダゾール－１－イル、１,２,４－トリアゾール－１－イル）、
ハロ（例えば、Ｆ、Ｂｒ、Ｃｌ）、
ハロC_{1-4}アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、
－Ｃ(Ｏ)－R_{15}、
－Ｎ(R_{16})(R_{17})、
－Ｓ$(O)_2R_{21}$または
ＮまたはＯからなる群から選択される少なくとも１個の原子を含有していてもよいC_{3-7}シクロアルキル（例えば、シクロペンチル、シクロヘキシル、ピロリジニル（例えば、ピロリジン－３－イル）、テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル、またはモルホリニル）
であり；
ここで、Ｄ、ＥおよびＦは、独立して、１個以上の
ハロ（例えば、Ｆ、ＣｌまたはＢｒ）、
C_{1-4}アルキル（例えば、メチル）、
ハロC_{1-4}アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、
C_{1-4}アルコキシまたは
C_{1-4}アルキル（例えば、５－メチルピリド－２－イル）
で置換されていてもよく、
例えば、Ｆは、ヘテロアリール、例えば、１個以上のハロで置換されているピリジル（例えば、６－フルオロピリド－２－イル、５－フルオロピリド－２－イル、６－フルオロピリド－２－イル、３－フルオロピリド－２－イル、４－フルオロピリド－２－イル、４,６－ジクロロピリド－２－イル）であるか、
またはＦは、アリール、例えば、１個以上のハロで置換されているフェニル（例え

ば、４－フルオロフェニル）であるか、
　　またはＦは、Ｃ$_{1-6}$アルキルで置換されていてもよいＣ$_{3-7}$ヘテロシクロアルキル（例えば、ピロリジニル）（例えば、１－メチルピロリジン－３－イル）である）；
または
　ｅ）例えばハロアルキルで置換されている、置換ヘテロアリールアルキル；
　ｆ）式ＩＩＩのピラゾロ部分の窒素の１つと結合しており、式Ａ：
【化６】



式Ａ

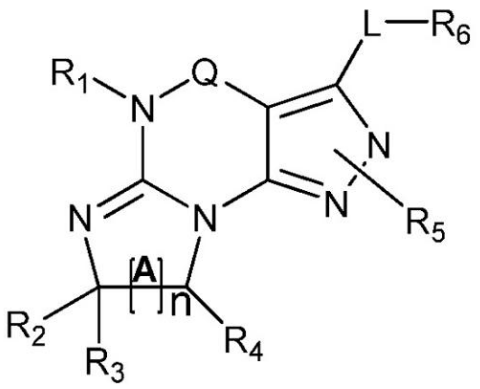
　　（式中、Ｘ、ＹおよびＺは、独立して、ＮまたはＣであり、Ｒ$_8$、Ｒ$_9$、Ｒ$_{11}$およびＲ$_{12}$は、独立して、Ｈまたはハロゲン（例えば、ＣｌまたはＦ）であり、Ｒ$_{10}$は、
　　ハロゲン、
　　Ｃ$_{1-4}$アルキル、
　　Ｃ$_{3-7}$シクロアルキル、
　　ヘテロＣ$_{3-7}$シクロアルキル（例えば、ピロリジニルまたはピペリジニル）、
　　Ｃ$_{1-4}$ハロアルキル（例えば、トリフルオロメチル）、
　　アリール（例えば、フェニル）、
　　ヘテロアリール（例えば、ピリジル（例えば、ピリド－２－イル）、またはチアジアゾリル（例えば、１,２,３－チアジアゾール－４－イル））、ジアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、
　　アリールカルボニル（例えば、ベンゾイル）、
　　アルキルスルホニル（例えば、メチルスルホニル）、
　　ヘテロアリールカルボニル、または
　　アルコキシカルボニル
であり；
　　ここで、該アリール、ヘテロアリール、シクロアルキルまたはヘテロシクロアルキルは、独立して、１個以上のハロ（例えば、ＦまたはＣｌ）、Ｃ$_{1-4}$アルキル、Ｃ$_{1-4}$アルコキシ、Ｃ$_{1-4}$ハロアルキル（例えば、トリフルオロメチル）、－ＳＨで置換されていてもよく；
　　好ましくは、Ｒ$_{10}$は、上記で定義された置換基で置換されていてもよい、例えばハロまたはアルキルで置換されていてもよい、フェニル、ピリジル、ピペリジニルまたはピロリジニルであり、
　　ただし、Ｘ、ＹまたはＺが窒素である場合、Ｒ$_8$、Ｒ$_9$またはＲ$_{10}$は、それぞれ、存在しない）
で示される部分
であり；
　（ｘｉｘ）Ｒ$_6$は、
　　Ｈ、

C_{1-4}アルキル、
C_{3-7}シクロアルキル（例えば、シクロペンチル）、
アリール（例えば、フェニル）、
ヘテロアリール（例えば、ピリジル、例えば、ピリド－４－イル）、
アリールC_{1-4}アルキル（例えば、ベンジル）、
アリールアミノ（例えば、フェニルアミノ）、
ヘテロアリールアミノ、
N,N－ジC_{1-4}アルキルアミノ、
N,N－ジアリールアミノ、
N－アリール－N－(アリールC_{1-4}アルキル)アミノ（例えば、N－フェニル－N－(１,１'－ビフェン－４－イルメチル)アミノ）、または
$-N(R_{18})(R_{19})$
であり；
ここで、該アリールまたはヘテロアリールは、１個以上のハロ（例えば、Ｆ、Ｃｌ）、ヒドロキシ、C_{1-6}アルキル、C_{1-6}アルコキシ、C_{3-8}シクロアルキルで置換されていてもよく、
例えば、R_6は、４－ヒドロキシフェニルまたは４－フルオロフェニルであり；
（ｘｘ）ｎ＝０または１であり；
（ｘｘｉ）ｎ＝１である場合、Ａは、$-C(R_{13}R_{14})-$であり、ここで、R_{13}およびR_{14}は、独立して、Ｈ、またはC_{1-4}アルキル、アリール、ヘテロアリール、(所望によりヘテロ)アリールC_{1-4}アルコキシ、(所望によりヘテロ)アリールC_{1-4}アルキルであるか、またはR_{13}またはR_{14}は、R_2もしくはR_4と架橋を形成することができ；
（ｘｘｉｉ）R_{15}は、C_{1-4}アルキル、ハロC_{1-4}アルキル、－ＯＨまたは－ＯC_{1-4}アルキル（例えば、$-OCH_3$）であり；
（ｘｘｉｉｉ）R_{16}およびR_{17}は、独立して、ＨまたはC_{1-4}アルキルであり；
（ｘｘｉｖ）R_{18}およびR_{19}は、独立して、
Ｈ、
C_{1-4}アルキル、
C_{3-8}シクロアルキル、
ヘテロC_{3-8}シクロアルキル、
アリール（例えば、フェニル）、または
ヘテロアリール
であり、
ここで、該アリールまたはヘテロアリールは、１個以上の
ハロ（例えば、フルオロフェニル、例えば、４－フルオロフェニル）、
ヒドロキシ（例えば、ヒドロキシフェニル、例えば、４－ヒドロキシフェニルまたは２－ヒドロキシフェニル）、
C_{1-6}アルキル、
ハロC_{1-6}アルキル、
C_{1-6}アルコキシ、
アリール,
ヘテロアリール、または
C_{3-8}シクロアルキル
で置換されていてもよく；
（ｘｘｖ）R_{20}は、Ｈ、C_{1-4}アルキル（例えば、メチル）またはC_{3-7}シクロアルキルであり；
（ｘｘｖｉ）R_{21}は、C_{1-6}アルキルである。

【００３３】

さらに別の実施態様において、本発明は、また、遊離形態または塩形態の式ＩＶ：

【化７】



式IV

［式中、
Ｑは、Ｃ(＝Ｓ)、Ｃ(＝Ｎ(Ｒ$_{20}$))またはＣＨ$_2$であり；
Ｌは、単結合、－Ｎ(Ｈ)－、－ＣＨ$_2$－であり；
Ｒ$_1$は、ＨまたはＣ$_{1-4}$アルキル（例えば、メチルまたはエチル）であり；
Ｒ$_4$は、ＨまたはＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、メチル、イソプロピル）であり、Ｒ$_2$およびＲ$_3$は、独立して、Ｈ、またはハロもしくはヒドロキシで置換されていてもよいＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、メチルまたはイソプロピル）（例えば、Ｒ$_2$およびＲ$_3$はともにメチルであるか、またはＲ$_2$はＨであり、Ｒ$_3$はメチル、エチル、イソプロピルまたはヒドロキシエチルである）、アリール、ヘテロアリール、(所望によりヘテロ)アリールアルコキシ、または(所望によりヘテロ)アリールＣ$_{1-6}$アルキルであるか；またはＲ$_2$は、Ｈであり、Ｒ$_3$およびＲ$_4$は一緒になってジメチレン架橋、トリメチレン架橋またはテトラメチレン架橋を形成し（好ましくは、Ｒ$_3$およびＲ$_4$は一緒にシス配置を有し、例えば、Ｒ$_3$およびＲ$_4$を担持する炭素はそれぞれＲ配置およびＳ配置を有する）；
Ｒ$_5$は、
ａ）－Ｄ－Ｅ－Ｆ（式中、
Ｄは、Ｃ$_{1-4}$アルキレン（例えば、メチレン、エチレンまたはプロパ－２－イン－１－イレン）であり；
Ｅは、単結合、Ｃ$_{2-4}$アルキニレン（例えば、－Ｃ≡Ｃ－）、アリーレン（例えば、フェニレン）またはヘテロアリーレン（例えば、ピリジレン）であり；
Ｆは、Ｈ、アリール（例えば、フェニル）、ヘテロアリール（例えば、ピリジル、ジアゾリル、トリアゾリル、例えば、ピリド－２－イル、イミダゾール－１－イル、１,２,４－トリアゾール－１－イル）、ハロ（例えば、Ｆ、Ｂｒ、Ｃｌ）、ハロＣ$_{1-4}$アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、－Ｃ(Ｏ)－Ｒ$_{15}$、－Ｎ(Ｒ$_{16}$)(Ｒ$_{17}$)、－Ｓ(Ｏ)$_2$Ｒ$_{21}$、またはＮもしくはＯからなる群から選択される少なくとも１個の原子を含有していてもよいＣ$_{3-7}$シクロアルキル（例えば、シクロペンチル、シクロヘキシル、ピロリジニル（例えば、ピロリジン－３－イル）、テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル、またはモルホリニル）
であり；
ここで、Ｄ、ＥおよびＦは、独立して、１個以上の
ハロ（例えば、Ｆ、ＣｌまたはＢｒ）、
Ｃ$_{1-4}$アルキル（例えば、メチル）、
ハロＣ$_{1-4}$アルキル（例えば、トリフルオロメチル）
で置換されていてもよく、
例えば、Ｆは、ヘテロアリール、例えば、１個以上のハロ（例えば、６－フルオロピリド－２－イル、５－フルオロピリド－２－イル、６－フルオロピリド－２－イル、３

－フルオロピリド－２－イル、４－フルオロピリド－２－イル、４,６－ジクロロピリド－２－イル）、ハロC_{1-4}アルキル（例えば、５－トリフルオロメチルピリド－２－イル）またはC_{1-4}アルキル（例えば、５－メチルピリド－２－イル）で置換されているピリジルであるか、

またはＦは、アリール、例えば、１個以上のハロで置換されているフェニル（例えば、４－フルオロフェニル）であるか

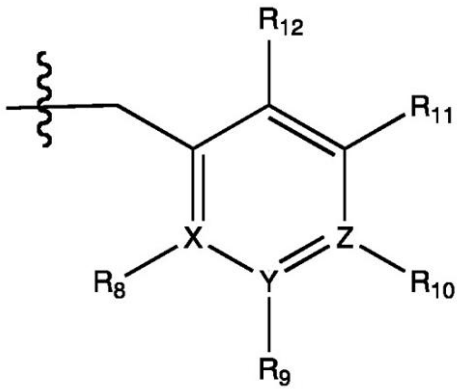
またはＦは、C_{1-6}アルキルで置換されていてもよい、C_{3-7}ヘテロシクロアルキル（例えば、ピロリジニル）（例えば、１－メチルピロリジン－３－イル）であるか；

または

ｂ）例えばハロアルキルで置換されている、置換ヘテロアリールアルキル；

ｃ）式ＩＶのピラゾロ部分の窒素の１個と結合しており、式Ａ：

【化８】



式Ａ

（式中、Ｘ、ＹおよびＺは、独立して、ＮまたはＣであり、R_8、R_9、R_{11}およびR_{12}は、独立して、Ｈまたはハロゲン（例えば、ＣｌまたはＦ）であり、R_{10}は、

ハロゲン、

C_{1-4}アルキル、

C_{3-7}シクロアルキル、

C_{1-4}ハロアルキル（例えば、トリフルオロメチル）、

アリール（例えば、フェニル）、

ヘテロアリール（例えば、ピリジル（例えば、ピリド－２－イル）、または

チアジアゾリル（例えば、１,２,３－チアジアゾール－４－イル））、ジアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、

アリールカルボニル（例えば、ベンゾイル）、

アルキルスルホニル（例えば、メチルスルホニル）、

ヘテロアリールカルボニル、または

アルコキシカルボニル

であり；

ただし、Ｘ、ＹまたはＺが窒素である場合、R_8、R_9またはR_{10}は、それぞれ、存在しない）

で示される部分

であり；

R_6は、

Ｈ、

C_{1-4}アルキル、

C_{3-7}シクロアルキル（例えば、シクロペンチル）、

アリール（例えば、フェニル）、

ヘテロアリール（例えば、ピリジル、例えば、ピリド－４－イル）、

アリールC1-4アルキル（例えば、ベンジル）、
アリールアミノ（例えば、フェニルアミノ）、
ヘテロアリールアミノ、
N,N－ジC1-4アルキルアミノ、
N,N－ジアリールアミノ、
N－アリール－N－(アリールC1-4アルキル)アミノ（例えば、N－フェニル－N－(1,1'－ビフェン－4－イルメチル)アミノ）、または
－N(R18)(R19)
であり；
ここで、該アリールまたはヘテロアリールは、1個以上のハロ（例えば、F、Cl）、ヒドロキシまたはC1-6アルコキシで置換されていてもよく、例えば、R6は、4－ヒドロキシフェニルまたは4－フルオロフェニルであり、
n＝0または1であり；
n＝1である場合、Aは、－C(R13R14)－であり、ここで、R13およびR14は、独立して、H、またはC1-4アルキル、アリール、ヘテロアリール、(所望によりヘテロ)アリールC1-4アルコキシまたは(所望によりヘテロ)アリールC1-4アルキルであり；
R15は、C1-4アルキル、ハロC1-4アルキル、－OHまたは－OC1-4アルキル（例えば、－OCH3）であり、
R16およびR17は、独立して、HまたはC1-4アルキルであり；
R18およびR19は、独立して、H、C1-4アルキルまたはアリール（例えば、フェニル）であり、ここで、該アリールは、1個以上のハロ（例えば、フルオロフェニル、例えば、4－フルオロフェニル）またはヒドロキシ（例えば、ヒドロキシフェニル、例えば、4－ヒドロキシフェニルまたは2－ヒドロキシフェニル）で置換されていてもよく、
R20は、H、C1-4アルキル（例えば、メチル）またはC3-7シクロアルキルであり、
R21は、C1-6アルキルである]
で示される化合物を提供する。

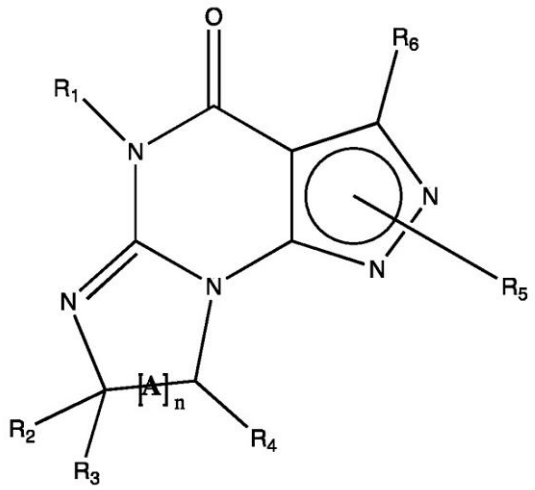
【００３４】

さらに別の実施態様において、本発明は、本明細書に記載されている治療方法および予防方法において使用するためのＰＤＥ１阻害剤が、下記の本出願人自身の刊行物のいずれかから選択されることを提供する：米国特許出願公開第２００８－０１８８４９２号、米国特許出願公開第２０１０－０１７３８７８号、米国特許出願公開第２０１０－０２７３７５４号、米国特許出願公開第２０１０－０２７３７５３号、国際公開第２０１０／０６５１５３号、国際公開第２０１０／０６５１５１号、国際公開第２０１０／０６５１５１号、国際公開第２０１０／０６５１４９号、国際公開第２０１０／０６５１４７号、国際公開第２０１０／０６５１５２号、国際公開第２０１１／１５３１２９号、国際公開第２０１１／１３３２２４号、国際公開第２０１１／１５３１３５号、国際公開第２０１１／１５３１３６号、および国際公開第２０１１／１５３１３８号（各々の全記載内容は出典明示によりその全体として本明細書の一部を構成する）。

【００３５】

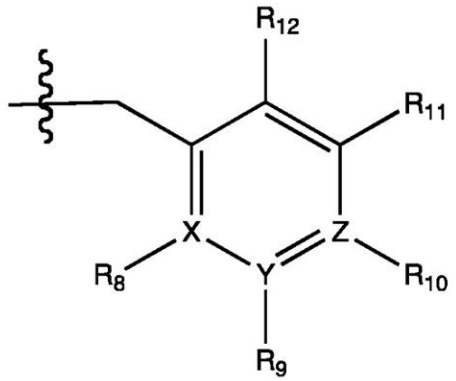
さらに別の実施態様において、本発明は、本明細書に記載の治療方法および予防方法に使用するためのＰＤＥ１阻害剤が、エナンチオマー、ジアステレオマーおよびラセミ体を包含する、遊離形態、塩形態またはプロドラッグ形態の式Ｖ：

【化９】



式Ｖ

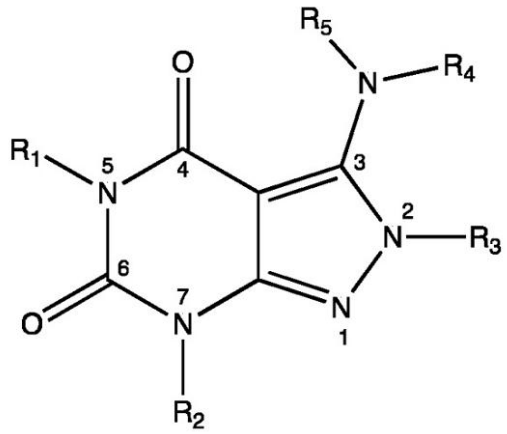
［式中、
（ｉ）Ｒ$_1$は、ＨまたはＣ$_{1-4}$アルキル（例えば、メチル）であり；
（ｉｉ）Ｒ$_4$は、ＨまたはＣ$_{1-4}$アルキルであり、Ｒ$_2$およびＲ$_3$は、独立して、ＨまたはＣ$_{1-4}$アルキル（例えば、Ｒ$_2$およびＲ$_3$はともにメチルであるか、またはＲ$_2$は、Ｈであり、Ｒ$_3$はイソプロピルである）、アリール、ヘテロアリール、(所望によりヘテロ)アリールアルコキシ、または(所望によりヘテロ)アリールアルキルであるか；
または
Ｒ$_2$はＨであり、Ｒ$_3$およびＲ$_4$は一緒になってジメチレン架橋、トリメチレン架橋またはテトラメチレン架橋を形成し
（好ましくは、Ｒ$_3$およびＲ$_4$は一緒にシス配置を有し、例えば、Ｒ$_3$およびＲ$_4$を担持する炭素はそれぞれＲ配置およびＳ配置を有する）；
（ｉｉｉ）Ｒ$_5$は、例えばハロアルキルで置換されている、置換ヘテロアリールアルキルであるか、
または
Ｒ$_5$は、式Ｖのピラゾロ部分の窒素の１つと結合しており、式Ａ：
【化１０】



式Ａ

（式中、Ｘ、ＹおよびＺは、独立して、ＮまたはＣであり、Ｒ$_8$、Ｒ$_9$、Ｒ$_{11}$およびＲ$_{12}$は、独立して、Ｈまたはハロゲン（例えば、ＣｌまたはＦ）であり、Ｒ$_{10}$は、ハロゲン、アルキル、シクロアルキル、ハロアルキル（例えば、トリフルオロメチル）、アリール（例えば、フェニル）、ヘテロアリール（例えば、ピリジル（例えば、ピリド－２－イ

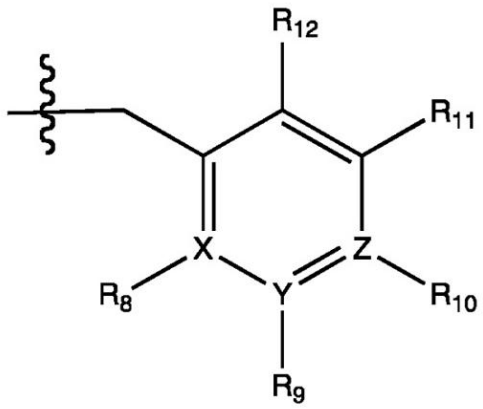
ル）、またはチアジアゾリル（例えば、１,２,３－チアジアゾール－４－イル)）、ジアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、アリールカルボニル（例えば、ベンゾイル）、アルキルスルホニル（例えば、メチルスルホニル）、ヘテロアリールカルボニルまたはアルコキシカルボニルであり；ただし、Ｘ、ＹまたはＺが窒素である場合、R_8、R_9またはR_{10}は、それぞれ、存在しない）
で示される部分であり；
（ｉｖ）R_6は、Ｈ、アルキル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル（例えば、ベンジル）、アリールアミノ（例えば、フェニルアミノ）、ヘテロアリールアミノ、Ｎ,Ｎ－ジアルキルアミノ、Ｎ,Ｎ－ジアリールアミノまたはＮ－アリール－Ｎ－(アリールアルキル)アミノ（例えば、Ｎ－フェニル－Ｎ－(１,１'－ビフェン－４－イルメチル)アミノ）であり；
（ｖ）ｎ＝０または１であり；
（ｖｉ）ｎ＝１である場合、Ａは－Ｃ($R_{13}R_{14}$)－であり、
ここで、R_{13}およびR_{14}は、独立して、ＨまたはC_{1-4}アルキル、アリール、ヘテロアリール、(所望によりヘテロ)アリールアルコキシまたは(所望によりヘテロ)アリールアルキルである]
で示される化合物であることを提供する。
【００３６】
一の実施態様において、本発明は、本明細書に記載の治療方法および予防方法に使用するためのＰＤＥ１阻害剤が、遊離形態、塩形態、または生理学的に加水分解可能かつ許容されるエステルプロドラッグ形態の式ＶＩ：
【化１１】



式 VI

[式中、
（ｉ）R_1は、Ｈまたはアルキルであり；
（ｉｉ）R_2は、Ｈ、アルキル、シクロアルキル、ハロアルキル、アルキルアミノアルキル、ヒドロキシアルキル、アリールアルキル、ヘテロアリールアルキルまたはアルコキシアリールアルキルであり；
（ｉｉｉ）R_3は、ヘテロアリールメチル、または式Ａ：

【化１２】



式Ａ

（式中、Ｘ、ＹおよびＺは、独立して、ＮまたはＣであり、R_8、R_9、R_{11}およびR_{12}は、独立して、Ｈまたはハロゲンであり；R_{10}は、ハロゲン、アルキル、シクロアルキル、ハロアルキル、アリール、ヘテロアリール、アルキルスルホニル、アリールカルボニル、ヘテロアリールカルボニル、アルコキシカルボニルまたはアミノカルボニルである）であり；

（ｉｖ）R_4は、アリールまたはヘテロアリールであり；

（ｖ）R_5は、Ｈ、アルキル、シクロアルキル、ヘテロアリール、アリール、ｐ－ベンジルアリールである；

ただし、Ｘ、ＹまたはＺが窒素である場合、R_8、R_9またはR_{10}は、それぞれ、存在しない；

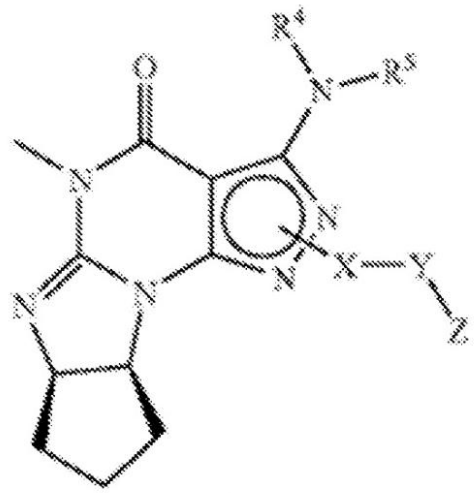
ここで、「アルク」または「アルキル」とは、C_{1-6}アルキルをいい、「シクロアルキル」とは、C_{3-6}シクロアルキルをいう］

で示される化合物であることを提供する。

【００３７】

一の実施態様において、本発明は、本明細書に記載の治療方法および予防方法に使用するためのＰＤＥ１阻害剤が、遊離形態、塩形態またはプロドラッグ形態の式ＶＩＩ：

【化１３】



式VII

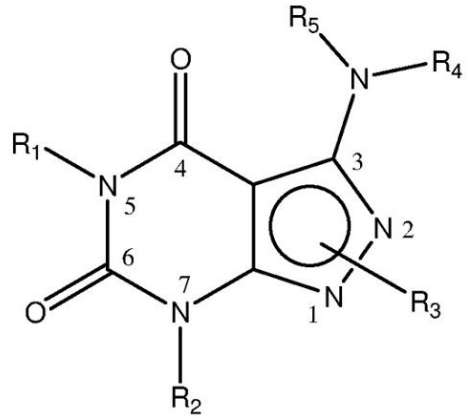
［（ｉ）Ｘは、C_{1-6}アルキレン（例えば、メチレン、エチレンまたはプロパ－２－イン－１－イレン）であり；

（ｉｉ）Ｙは、単結合、アルキニレン（例えば、－Ｃ≡Ｃ－）、アリーレン（例えば、フェニレン）またはヘテロアリーレン（例えば、ピリジレン）であり；
（ｉｉｉ）Ｚは、Ｈ、アリール（例えば、フェニル）、ヘテロアリール（例えば、ピリジル、例えば、ピリド－２－イル）、ハロ（例えば、Ｆ、Ｂｒ、Ｃｌ）、ハロC_{1-6}アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、－Ｃ(Ｏ)－R_1、－Ｎ(R_2)(R_3)、またはＮもしくはＯからなる群から選択される少なくとも１個の原子を含有していてもよいC_{3-7}シクロアルキル（例えば、シクロペンチル、シクロヘキシル、テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル、またはモルホリニル）であり；
（ｉｖ）R_1は、C_{1-6}アルキル、ハロC_{1-6}アルキル、－ＯＨまたは－ＯC_{1-6}アルキル（例えば、－ＯＣH_3）であり；
（ｖ）R_2およびR_3は、独立して、ＨまたはC_{1-6}アルキルであり；
（ｖｉ）R_4およびR_5は、独立して、Ｈ、１個以上のハロ（例えば、フルオロフェニル、例えば、４－フルオロフェニル）、ヒドロキシ（例えば、ヒドロキシフェニル、例えば、４－ヒドロキシフェニルまたは２－ヒドロキシフェニル）またはC_{1-6}アルコキシで置換されていてもよいC_{1-6}アルキルまたはアリール（例えば、フェニル）であり；
（ｖｉｉ）Ｘ、ＹおよびＺは、独立して、１個以上のハロ（例えば、Ｆ、ＣｌまたはＢｒ）、C_{1-6}アルキル（例えば、メチル）、ハロC_{1-6}アルキル（例えば、トリフルオロメチル）で置換されていてもよく、例えば、Ｚは、ヘテロアリール、例えば、１個以上のハロ（例えば、６－フルオロピリド－２－イル、５－フルオロピリド－２－イル、６－フルオロピリド－２－イル、３－フルオロピリド－２－イル、４－フルオロピリド－２－イル、４,６－ジクロロピリド－２－イル）、ハロC_{1-6}アルキル（例えば、５－トリフルオロメチルピリド－２－イル）またはC_{1-6}アルキル（例えば、５－メチルピリド－２－イル）で置換されているピリジルであるか、またはＺは、アリール、例えば、１個以上のハロで置換されているフェニル（例えば、４－フルオロフェニル）である]
で示される化合物であることを提供する。

【００３８】

一の実施態様において、本発明は、本明細書に記載の治療方法および予防方法に使用するためのＰＤＥ１阻害剤が、遊離形態または塩形態の式ＶＩＩＩ：

【化１４】



式 VIII

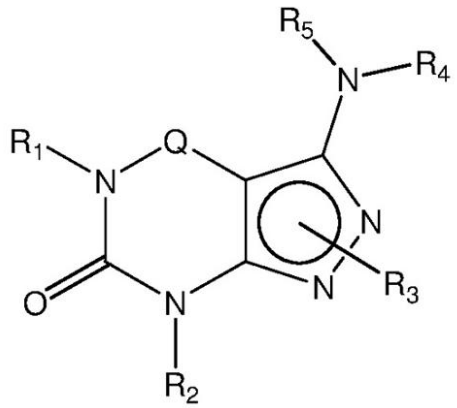
[式中、
（ｉ）R_1は、ＨまたはC_{1-6}アルキルであり；
（ｉｉ）R_2は、
Ｈ、
C_{1-6}アルキル、
１個以上のアミノで置換されていてもよいC_{3-8}シクロアルキル、
C_{1-6}アルキルで置換されていてもよいC_{3-8}ヘテロシクロアルキル、

C_{3-8}シクロアルキル－C_{1-6}アルキル、
C_{1-6}ハロアルキル、
C_{0-6}アルキルアミノC_{0-6}アルキル、
ヒドロキシC_{1-6}アルキル、
アリールC_{0-6}アルキル、
ヘテロアリールアルキル，
C_{1-6}アルコキシアリールC_{1-6}アルキル、または
－Ｇ－Ｊ（式中、
Ｇは、単結合またはアルキレンであり；
Ｊは、アルキルで置換されていてもよいシクロアルキルまたはヘテロシクロアルキルである）
であり；
（ｉｉｉ）R_3は、
ａ）－Ｄ－Ｅ－Ｆ（式中、
１．Ｄは、単結合、C_{1-6}アルキレンまたはアリールC_{1-6}アルキレンであり；
２．Ｅは、C_{1-6}アルキレン、アリーレン、C_{1-6}アルキルアリーレン、アミノC_{1-6}アルキレンまたはアミノであり；
３．Ｆは、C_{1-6}アルキルで置換されていてもよいヘテロC_{3-8}シクロアルキルである）
であり；
（ｉｖ）R_4は、１個以上のハロ、ヒドロキシもしくはC_{1-6}アルコキシで置換されていてもよいアリール；ヘテロアリール；またはヘテロC_{3-6}シクロアルキルであり；
（ｖ）R_5は、Ｈ、C_{1-6}アルキル、C_{3-8}シクロアルキル、ヘテロアリール、アリールまたはｐ－ベンジルアリールであり；
ここで、「アルク」、「アルキル」、「ハロアルキル」または「アルコキシ」とは、C_{1-6}アルキルに言及しており、「シクロアルキル」とはC_{3-8}シクロアルキルをいう］
で示される化合物であることを提供する。

【００３９】

一の実施態様において、本発明は、本明細書に記載の治療方法および予防方法に使用するためのＰＤＥ１阻害剤が、遊離形態または塩形態の式ＩＸ：

【化１５】



式 IX

［式中、
（ｉ）Ｑは、－Ｃ(＝Ｓ)－、－Ｃ(＝Ｎ(R_6))－または－Ｃ(R_{14})(R_{15})－であり；
（ｉｉ）R_1は、ＨまたはC_{1-6}アルキル（例えば、メチルまたはエチル）であり；
（ｉｉｉ）R_2は、
Ｈ、
C_{1-6}アルキル（例えば、イソプロピル、イソブチル、２－メチルブチルまたは２，２

－ジメチルプロピル）（ここで、該アルキル基は、１個以上のハロ（例えば、フルオロ）またはヒドロキシで置換されていてもよい（例えば、ヒドロキシC_{1-6}アルキル、例えば、１－ヒドロキシプロパ－２－イルまたは３－ヒドロキシ－２－メチルプロピル））、

ハロC_{1-6}アルキル（例えば、トリフルオロメチルまたは２,２,２－トリフルオロエチル）、

N(R14)(R15)－C_{1-6}アルキル（例えば、２－(ジメチルアミノ)エチルまたは２－アミノプロピル）、

アリールC_{0-6}アルキル（例えば、フェニルまたはベンジル）（ここで、該アリールは、１個以上のC_{1-6}アルコキシで置換されていてもよい）、例えば、C_{1-6}アルコキシアリールC_{0-6}アルキル（例えば、４－メトキシベンジル）、

ヘテロアリールC_{0-6}アルキル（例えば、ピリジニルメチル）（ここで、該ヘテロアリールは、１個以上のC_{1-6}アルコキシで置換されていてもよい）（例えば、C_{1-6}アルコキシヘテロアリールC_{1-6}アルキル）；

－G－J（ここで、Gは単結合またはC_{1-6}アルキレン（例えば、メチレン）であり、Jは、C_{3-8}シクロアルキルまたはヘテロC_{3-8}シクロアルキル（例えば、オキセタン－２－イル、ピロリジン－３－イル、ピロリジン－２－イル）である（ここで、該シクロアルキルおよびヘテロシクロアルキル基は、１個以上のC_{1-6}アルキルまたはアミノで置換されていてもよい（例えば、

－C_{0-4}アルキル－C_{3-8}シクロアルキル（例えば、－C_{0-4}アルキル－シクロペンチル、－C_{0-4}アルキル－シクロヘキシルまたは－C_{0-4}アルキル－シクロプロピル）（ここで、該シクロアルキルは、１個以上のC_{1-6}アルキルまたはアミノで置換されていてもよい（例えば、２－アミノシクロペンチルまたは２－アミノシクロヘキシル））、

－C_{0-4}アルキル－C_{3-8}ヘテロシクロアルキル（例えば、－C_{0-4}アルキル－ピロリジニル、例えば、－C_{0-4}アルキルピロリジン－３－イル）（ここで、該ヘテロシクロアルキルは、C_{1-6}アルキル（例えば、メチル）で置換されていてもよい（例えば、１－メチルピロリジン－３－イル、１－メチル－ピロリジン－２－イル、１－メチル－ピロリジン－２－イル－メチルまたは１－メチル－ピロリジン－３－イル－メチル））））

であり；

（ｉｖ）R_3は、

１）－D－E－F（式中、

Dは、単結合、C_{1-6}アルキレン（例えば、メチレン）またはアリールC_{1-6}アルキレン（例えば、ベンジレンまたは－$CH_2C_6H_4$－）であり；

Eは、

単結合、

C_{1-4}アルキレン（例えば、メチレン、エチニレン、プロパ－２－イン－１－イレン）、

C_{0-4}アルキルアリーレン（例えば、フェニレンまたは－C_6H_4－、－ベンジレン－または－$CH_2C_6H_4$－）（ここで該アリーレン基は、ハロ（例えば、ＣｌまたはＦ）で置換されていてもよい）、

ヘテロアリーレン（例えば、ピリジニレンまたはピリミジニレン）、

アミノC_{1-6}アルキレン（例えば、－$CH_2N(H)$－）、

アミノ（例えば、－N(H)－）；

NまたはOから選択される１個以上のヘテロ原子を含有していてもよいC_{3-8}シクロアルキレン（例えば、ピペリジニレン）

であり、

Fは、

Ｈ、

ハロ（例えば、Ｆ、Ｂｒ、Ｃｌ）、

C_{1-6}アルキル（例えば、イソプロピルまたはイソブチル）、

ハロC_{1-6}アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、

アリール（例えば、フェニル）、

Ｎ、ＳまたはＯからなる群から選択される１個以上の原子を含有していてもよいＣ$_{3-8}$シクロアルキル（例えば、シクロペンチル、シクロヘキシル、ピペリジニル、ピロリジニル、テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル、またはモルホリニル）であって、１個以上のＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、メチルまたはイソプロピル）で置換されていてもよいＣ$_{3-8}$シクロアルキル（例えば、１－メチルピロリジン－２－イル、ピロリジン－１－イル、ピロリジン－２－イル、ピペリジン－２－イル、１－メチルピペリジン－２－イル、１－エチルピペリジン－２－イル）、

ヘテロアリール（例えば、ピリジル（例えば、ピリド－２－イル）、ピリミジニル（例えば、ピリミジン－２－イル）、チアジアゾリル（例えば、１,２,３－チアジアゾール－４－イル）、ジアゾリル（例えば、ピラゾリル（例えば、ピラゾール－１－イル）またはイミダゾリル（例えば、イミダゾール－１－イル、４－メチルイミダゾリル、１－メチルイミダゾール－２－イル））、トリアゾリル（例えば、１,２,４－トリアゾール－１－イル）、テトラゾリル（例えば、テトラゾール－５－イル）、アルキルオキサジアゾリル（例えば、５－メチル－１,２,４－オキサジアゾール））、（ここで、該ヘテロアリールは、１個以上のＣ$_{1-6}$アルキル、ハロ（例えば、フルオロ）またはハロＣ$_{1-6}$アルキルで置換されていてもよい）；

Ｃ$_{1-6}$アルコキシ、

－Ｏ－ハロＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、－Ｏ－ＣＦ$_3$）、

Ｃ$_{1-6}$アルキルスルホニル（例えば、メチルスルホニルまたは－Ｓ(Ｏ)$_2$ＣＨ$_3$）、

－Ｃ(Ｏ)－Ｒ$_{13}$（ここで、Ｒ$_{13}$は、－Ｎ(Ｒ$_{14}$)(Ｒ$_{15}$)、Ｃ$_{1-6}$アルキル（例えば、メチル）、－ＯＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、－ＯＣＨ$_3$）、ハロＣ$_{1-6}$アルキル（トリフルオロメチル）、アリール（例えば、フェニル）、またはヘテロアリールである）；

－Ｎ(Ｒ$_{14}$)(Ｒ$_{15}$)

である）；

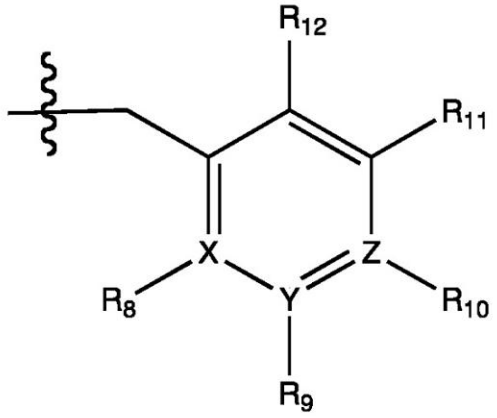
または

２）例えばハロＣ$_{1-6}$アルキルで置換されている、置換ヘテロアリールＣ$_{1-6}$アルキル；

または

３）式ＩＸのピラゾロ部分の窒素の１つと結合しており、式Ａ：

【化１６】



式Ａ

（式中、

Ｘ、ＹおよびＺは、独立して、ＮまたはＣであり、

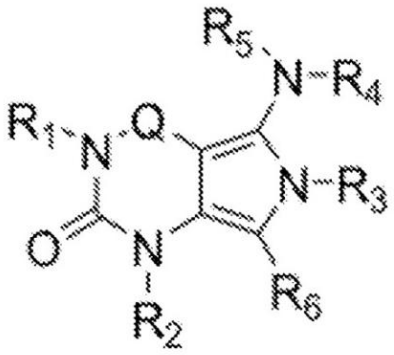
Ｒ$_8$、Ｒ$_9$、Ｒ$_{11}$およびＲ$_{12}$は、独立して、Ｈまたはハロゲン（例えば、Ｃｌまたは Ｆ）であり；

Ｒ$_{10}$は、

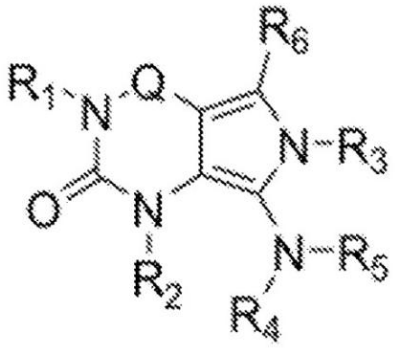
ハロゲン（例えば、フルオロまたはクロロ）、
C_{1-6}アルキル、
C_{3-8}シクロアルキル、
ヘテロC_{3-8}シクロアルキル（例えば、ピロリジニルまたはピペリジニル)、
ハロC_{1-6}アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、
アリール（例えば、フェニル）またはヘテロアリール（例えば、ピリジル（例えば、ピリド－２－イル）または例えば、チアジアゾリル（例えば、１,２,３－チアジアゾール－４－イル）、ジアゾリル、トリアゾリル（例えば、１,２,４－トリアゾール－１－イル）、テトラゾリル（例えば、テトラゾール－５－イル）、アルキルオキサジアゾリル（例えば、５－メチル－１,２,４－オキサジアゾール）、ピラゾリル（例えば、ピラゾール－１－イル））
（ここで、該アリール、ヘテロアリール、シクロアルキルまたはヘテロシクロアルキルは、１個以上のC_{1-6}アルキル（例えば、メチル）、ハロゲン（例えば、クロロまたはフルオロ）、ハロC_{1-6}アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、ヒドロキシ、カルボキシ、－ＳＨ、またはさらなるアリールもしくはヘテロアリール（例えば、ビフェニルまたはピリジルフェニル）で置換されていてもよい）、
C_{1-6}アルキルスルホニル（例えば、メチルスルホニル）、
アリールカルボニル（例えば、ベンゾイル）、
ヘテロアリールカルボニル、
C_{1-6}アルコキシカルボニル（例えば、メトキシカルボニル）、
アミノカルボニル、
－$N(R_{14})(R_{15})$
であり；
好ましくは、R_{10}は、上記で定義された置換基で置換されていてもよい、例えばハロまたはアルキルで置換されていてもよい、フェニル、ピリジル、ピペリジニルまたはピロリジニルである；
ただし、Ｘ、ＹまたはＺが窒素である場合、R_8、R_9またはR_{10}は、それぞれ、存在しない）
で示される部分
であり；
（ｖ）R_4およびR_5は、独立して、
Ｈ、
C_{1-6}アルキル（例えば、メチル、イソプロピル、イソブチル、ｎ－プロピル）、
C_{3-8}シクロアルキル（例えば、シクロペンチルまたはシクロヘキシル）、
C_{3-8}ヘテロシクロアルキル（例えば、ピロリジニル（例えば、ピロリジン－３－イルまたはピロリジン－１－イル）、ピペリジニル（例えば、ピペリジン－１－イル）、モルホリニル）、
－C_{0-6}アルキルアリール（例えば、フェニルまたはベンジル）または
－C_{0-6}アルキルヘテロアリール（例えば、ピリド－４－イル、ピリド－２－イルまたはピラゾール－３－イル）
（ここで、該アリールまたはヘテロアリールは、１個以上のハロ（例えば、４－フルオロフェニル）、ヒドロキシ（例えば、４－ヒドロキシフェニル）、C_{1-6}アルキル、C_{1-6}アルコキシまたは別のアリール基（例えば、ビフェニル－４－イルメチル）で置換されていてもよい）
であり；
（ｖｉ）R_6は、Ｈ、C_{1-6}アルキル（例えば、メチルまたはエチル）またはC_{3-8}シクロアルキルであり；
（ｖｉｉ）R_{14}およびR_{15}は、独立して、ＨまたはC_{1-6}アルキルである］
で示される化合物であることを提供する。
【００４０】

一の実施態様において、本発明は、本明細書に記載の治療方法および予防方法に使用するためのＰＤＥ１阻害剤が、遊離形態または塩形態の式Ｘ－Ａまたは式Ｘ－Ｂ：

【化１７】



または



式X-A　　式X-B

【００４１】

［式中、

（ｉ）Ｑは、－Ｃ(＝Ｓ)－、－Ｃ(＝Ｏ)－、－Ｃ(＝Ｎ(Ｒ$_7$))－または－Ｃ(Ｒ$_{14}$)(Ｒ$_{15}$)－であり；

（ｉｉ）Ｒ$_1$は、ＨまたはＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、メチルまたはエチル）であり；

（ｉｉｉ）Ｒ$_2$は、Ｈ、Ｃ$_{1-6}$アルキル（例えば、イソプロピル、イソブチル、２－メチルブチル、２,２－ジメチルプロピル）（ここで、該アルキル基は、ハロ（例えば、フルオロ）またはヒドロキシ（例えば、１－ヒドロキシプロパン－２－イル、３－ヒドロキシ－２－メチルプロピル）で置換されていてもよい）（例えば、Ｒ$_2$は、トリフルオロメチルまたは２,２,２－トリフルオロエチルである）、Ｎ(Ｒ$_{14}$)(Ｒ$_{15}$)－Ｃ$_{1-6}$アルキル（例えば、２－(ジメチルアミノ)エチルまたは２－アミノプロピル）、アリールＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、フェニルまたはベンジル）、ヘテロアリールＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、ピリジニルメチル）、Ｃ$_{1-6}$アルコキシアリール－Ｃ$_{1-6}$アルキル（例えば、４－メトキシベンジル）であり得る）；－Ｇ－Ｊ（式中、

Ｇは、単結合またはアルキレン（例えば、メチレン）であり；Ｊは、１個以上のＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、（１－メチルピロリジン－２－イル））、アミノ（例えば、－ＮＨ$_2$）で置換されていてもよいシクロアルキルまたはヘテロシクロアルキル（例えば、オキセタン－２－イル、ピロリジン－３－イル、ピロリジン－２－イル）であり、例えば、－Ｇ－Ｊは、１個以上のＣ$_{1-6}$アルキル、アミノ（例えば、－ＮＨ$_2$）で置換されていてもよい－Ｃ$_{0-4}$アルキル－Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル（例えば、シクロペンチル、シクロヘキシルまたはシクロプロピルメチル）、例えば２－アミノシクロペンチルまたは２－アミノシクロヘキシルであり得、ここで、該シクロアルキルは、ＮおよびＯから選択される１個以上のヘテロ原子を含有していてもよい（例えば、ピロリジニル、例えばピロリジン－３－イルまたはピロリジン－２－イル、１－メチル－ピロリジン－２－イル、１－メチル－ピロリジン－３－イル、１－メチル－ピロリジン－２－イル－メチルまたは１－メチル－ピロリジン－３－イル－メチル））

であり；

（ｉｖ）Ｒ$_3$は、

１）－Ｄ－Ｅ－Ｆ（式中、

Ｄは、単結合、Ｃ$_{1-6}$アルキレン（例えば、メチレン）、またはアリールアルキレン（例えば、ｐ－ベンジレンまたは－ＣＨ$_2$Ｃ$_6$Ｈ$_4$－）であり；

Ｅは、単結合、

Ｃ$_{1-6}$アルキレン（例えば、メチレン）、Ｃ$_{2-6}$アルキニレン（例えば、エチニレン、プロパ－２－イン－１－イレン）、－Ｃ$_{0-4}$アルキルアリーレン（例えば、フェニレン

または－C_6H_4－、－ベンジレン－または－$CH_2C_6H_4$－）（ここで、該アリーレン基は、ハロ（例えば、ＣｌまたはＦ）で置換されていてもよい）、ヘテロアリーレン（例えば、ピリジニレンまたはピリミジニレン）、アミノC_{1-6}アルキレン（例えば、－$CH_2N(H)$－）、アミノ（例えば、－N(H)－）；

ＮまたはＯから選択される１個以上のヘテロ原子を含有していてもよいC_{3-8}シクロアルキレン（例えば、ピペリジニレン）

であり、

Ｆは、

Ｈ、

ハロ（例えば、Ｆ、Ｂｒ、Ｃｌ）、C_{1-6}アルキル（例えば、イソプロピルまたはイソブチル）、ハロC_{1-6}アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、

アリール（例えば、フェニル）、

ＮまたはＯからなる群から選択される少なくとも１個の原子を含有していてもよいC_{3-8}シクロアルキル（例えば、シクロペンチル、シクロヘキシル、ピペリジニル、ピロリジニル、テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル、またはモルホリニル）（該シクロアルキルは、C_{1-6}アルキル（例えば、メチルまたはイソプロピル）で置換されていてもよい（例えば、１－メチルピロリジン－２－イル、ピロリジン－１－イル、ピロリジン－２－イル、ピペリジン－２－イル、１－メチルピペリジン－２－イル、１－エチルピペリジン－２－イル））、C_{1-6}アルキルで置換されていてもよいヘテロアリール（例えば、ピリジル（例えば、ピリド－２－イル）、ピリミジニル（例えば、ピリミジン－２－イル）、チアジアゾリル（例えば、１,２,３－チアジアゾール－４－イル）、ジアゾリル（例えば、ピラゾリル（例えば、ピラゾール－１－イル）またはイミダゾリル（例えば、イミダゾール－１－イル、４－メチルイミダゾリル、１－メチルイミダゾール－２－イル）、トリアゾリル（例えば、１,２,４－トリアゾール－１－イル）、テトラゾリル（例えば、テトラゾール－５－イル）、アルキルオキサジアゾリル（例えば、５－メチル－１,２,４－オキサジアゾール）、ピラゾリル（例えば、ピラゾール－１－イル）（ここで、該ヘテロアリールは、ハロ（例えば、フルオロ）またはハロC_{1-6}アルキルで置換されていてもよい（例えば、６－フルオロピリド－２－イル））；アミノ（例えば、－NH_2）、C_{1-6}アルコキシ、－Ｏ－ハロC_{1-6}アルキル（例えば、－Ｏ－CF_3）、C_{1-6}アルキルスルホニル（例えば、メチルスルホニルまたは－$S(O)_2CH_3$）、

－C(O)－R_{13}、

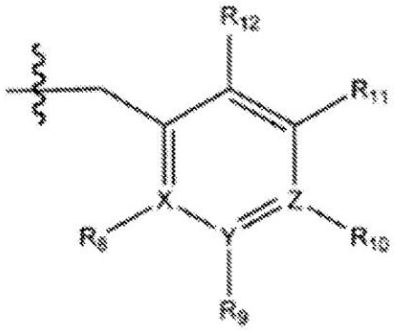
－N(R_{14})(R_{15})

である）；または

２）例えばハロアルキルで置換されている、置換ヘテロアリールアルキル；または

３）式Ｘ－ＡまたはＸ－Ｂのピロロ部分の窒素に結合しており、式Ａ：

【化１８】



式Ａ

（式中、Ｘ、ＹおよびＺは、独立して、ＮまたはＣであり、R_8、R_9、R_{11}およびR_{12}は、独立して、Ｈまたはハロゲン（例えば、ＣｌまたはＦ）であり；R_{10}は、ハロゲン、C_{1-6}アルキル、

C_{1-6}アルコキシ（例えば、メトキシ）、C_{3-8}シクロアルキル、ヘテロC_{3-8}シクロアルキル（例えば、ピロリジニル）ハロC_{1-6}アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、アリール（例えば、フェニル）、ヘテロアリール（例えば、ピリジル（例えば、ピリド－２－イル）または例えば、チアジアゾリル（例えば、１,２,３－チアジアゾール－４－イル）、ジアゾリル（例えば、イミダゾリルまたはピラゾリル）、トリアゾリル（例えば、１,２,４－トリアゾール－１－イル）、テトラゾリル（例えば、テトラゾール－５－イル）、アルキルオキサジアゾリル（例えば、５－メチル－１,２,４－オキサジアゾール）、ピラゾリル（例えば、ピラゾール－１－イル）、C_{1-6}アルキルスルホニル（例えば、メチルスルホニル）、アリールカルボニル（例えば、ベンゾイル）、ヘテロアリールカルボニル、

アルコキシカルボニル,（例えば、メトキシカルボニル）、アミノカルボニルであり；ここで、該アリール、ヘテロアリール、シクロアルキルまたはヘテロシクロアルキルは、１個以上のC_{1-6}アルキル（例えば、メチル）、ハロゲン（例えば、クロロまたはフルオロ）、ハロC_{1-6}アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、ヒドロキシ、カルボキシ、－ＳＨ、またはさらなるアリールもしくはヘテロアリール（例えば、ビフェニルまたはピリジルフェニル）で置換されていてもよく、好ましくは、R_{10}は、フェニルまたはピリジル、例えば、上記で定義された置換基で置換されていてもよい２－ピリジルであり；

ただし、Ｘ、ＹまたはＺが窒素である場合、R_8、R_9またはR_{10}は、それぞれ、存在しない）

で示される部分

であり；

（ｖ）R_4およびR_5は、独立して、Ｈ、C_{1-6}アルキル（例えば、メチル、イソプロピル）、C_{3-8}シクロアルキル（例えば、シクロペンチル）、C_{3-8}ヘテロシクロアルキル（例えば、ピロリジン－３－イル）、アリール（例えば、フェニル）またはヘテロアリール（例えば、ピリド－４－イル、ピリド－２－イルまたはピラゾール－３－イル）であり、ここで、該アリールまたはヘテロアリールは、ハロ（例えば、４－フルオロフェニル）、ヒドロキシ（例えば、４－ヒドロキシフェニル）、C_{1-6}アルキル、C_{1-6}アルコキシまたは別のアリール基（例えば、ビフェニル－４－イルメチル）で置換されていてもよく；

（ｖｉ）R_6は、Ｈ、C_{1-6}アルキル（例えば、メチル）、ヒドロキシ、C_{1-6}アルコキシ、アリールオキシ、－Ｎ(R_{16})(R_{17})、オキソ（例えば、＝Ｏ）、またはC_{3-8}シクロアルキルであり；

（ｖｉｉ）R_7は、Ｈ、C_{1-6}アルキル（例えば、メチル）またはC_{3-8}シクロアルキルであり、ここで、該シクロアルキルは、１個以上のオキソで置換されていてもよく（例えば、２,５－ジオキソピロリジン－１－イル）；

（ｖｉｉｉ）R_{13}は、－Ｎ(R_{14})(R_{15})、C_{1-6}アルキル（例えば、メチル）、－ＯC_{1-6}アルキル（例えば、－ＯＣＨ$_3$）、ハロC_{1-6}アルキル（トリフルオロメチル）、アリール（例えば、フェニル）、またはヘテロアリールであり；

（ｉｘ）R_{14}およびR_{15}は、独立して、ＨまたはC_{1-6}アルキルであり；

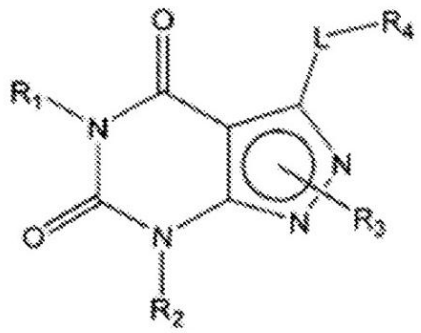
（ｘ）R_{16}およびR_{17}は、独立して、Ｈ、C_{1-6}アルキル、アリール（例えば、フェニル）、ヘテロアリールであり、ここで、該アリールまたはヘテロアリールは、ハロ（例えば、フルオロ）、C_{1-6}アルコキシ（例えば、メトキシ）で置換されていてもよい]

から選択される式Ｘであることを提供する。

【００４２】

一の実施態様において、本発明は、本明細書に記載の治療方法および予防方法に使用するためのＰＤＥ１阻害剤が、遊離形態または塩形態の式ＸＩ：

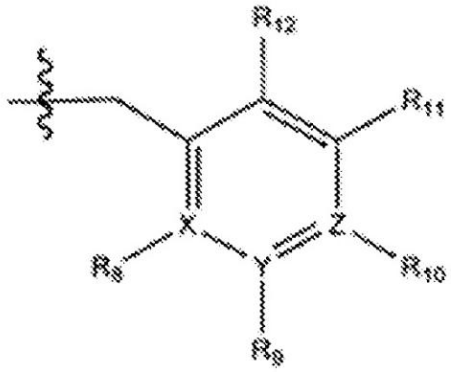
【化１９】



式XI

[式中、
（ｉ）Ｌは、Ｓ、ＳＯまたはＳＯ$_2$であり；
（ｉｉ）Ｒ$_2$は、ＨまたはＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、メチルまたはエチル）であり；
（ｉｉｉ）Ｒ$_2$は、
Ｈ、
Ｃ$_{1-6}$アルキル（例えば、イソプロピル、イソブチル、ネオペンチル、２－メチルブチル、２,２－ジメチルプロピル）（ここで、該アルキル基は、ハロ（例えば、フルオロ）またはヒドロキシ（例えば、１－ヒドロキシプロパン－２－イル、３－ヒドロキシ－２－メチルプロピル）で置換されていてもよい）、１個以上のアミノ（例えば、－ＮＨ$_2$）で置換されていてもよい－Ｃ$_{0-4}$アルキル－Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル（例えば、シクロペンチル、シクロヘキシル）（例えば、２－アミノシクロペンチルまたは２－アミノシクロヘキシル）（ここで、該シクロアルキルは、ＮおよびＯから選択される１個以上のヘテロ原子を含有していてもよく、Ｃ$_{1-6}$アルキルで置換されていてもよい（例えば、１－メチル－ピロリジン－２－イル、１－メチル－ピロリジン－３－イル、１－メチル－ピロリジン－２－イル－メチルまたは１－メチル－ピロリジン－３－イル－メチル））、Ｃ$_{1-6}$アルキル（例えば、メチル）で置換されていてもよいＣ$_{3-8}$ヘテロシクロアルキル（例えば、ピロリジニル、例えば、ピロリジン－３－イル）（例えば、１－メチルピロリジン－３－イル）、Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル－Ｃ$_{1-6}$アルキル（例えば、シクロプロピルメチル）、ハロＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、トリフルオロメチル、２,２,２－トリフルオロエチル）、－Ｎ(Ｒ$_{14}$)(Ｒ$_{15}$)－Ｃ$_{1-6}$アルキル（例えば、２－(ジメチルアミノ)エチル、２－アミノプロピル）、ヒドロキシＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、３－ヒドロキシ－２－メチルプロピル、１－ヒドロキシプロパ－２－イル）、アリールＣ$_{0-6}$アルキル（例えば、ベンジル）、ヘテロアリールＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、ピリジニルメチル）、Ｃ$_{1-6}$アルコキシアリールＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、４－メトキシベンジル）；－Ｇ－Ｊ（ここで、Ｇは単結合またはアルキレン（例えば、メチレン）であり；
Ｊは、Ｃ$_{1-6}$アルキルで置換されていてもよい、シクロアルキルまたはヘテロシクロアルキル（例えば、オキセタン－２－イル、ピロリジン－３－イル、ピロリジン－２－イル）（例えば、１－メチルピロリジン－２－イル））である）
であり；
（ｉｖ）Ｒ$_3$は、式ＸＩのピラゾロ部分の窒素の１つと結合しており、式Ａ：

【化２０】



式Ａ

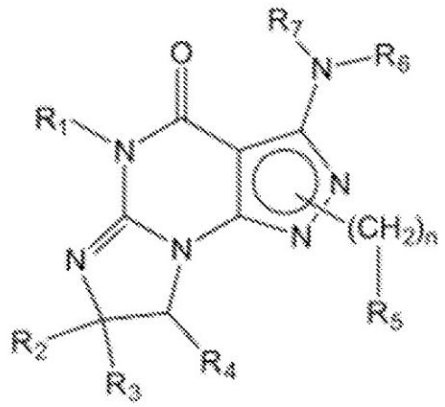
（式中、Ｘ、ＹおよびＺは、独立して、ＮまたはＣであり、R_8、R_9、R_{11}およびR_{12}は、独立して、Ｈまたはハロゲン（例えば、Ｃｌまたは Ｆ）であり；R_{10}は、ハロゲン、C_{1-6}アルキル、C_{3-8}シクロアルキル、ヘテロC_{3-8}シクロアルキル（例えば、ピロリジニルまたはピペリジニル）、ハロC_{1-6}アルキル（例えば、トリフルオロメチル）、アリール（例えば、フェニル）、ヘテロアリール（例えば、ピリジル（例えば、ピリド－２－イル）または例えば、チアジアゾリル（例えば、１,２,３－チアジアゾール－４－イル）、ジアゾリル、トリアゾリル（例えば、１,２,４－トリアゾール－１－イル）、テトラゾリル（例えば、テトラゾール－５－イル）、アルキルオキサジアゾリル（例えば、５－メチル－１,２,４－オキサジアゾール）、ピラゾリル（例えば、ピラゾール－１－イル）、アルキルスルホニル（例えば、メチルスルホニル）、

アリールカルボニル（例えば、ベンゾイル）、またはヘテロアリールカルボニル、アルコキシカルボニル（例えば、メトキシカルボニル）、アミノカルボニルであり；好ましくは、フェニル、ピリジル、例えば、２－ピリジル、ピペリジニル、またはピロリジニルであり；ここで、該アリール、ヘテロアリール、シクロアルキルまたはヘテロシクロアルキルは、１個以上のハロ（例えば、ＦまたはＣｌ）、C_{1-6}アルキル、C_{1-6}アルコキシ、C_{1-4}ハロアルキル（例えば、トリフルオロメチル）、および／または－ＳＨで置換されていてもよく、ただし、Ｘ、ＹまたはＺが窒素である場合、R_8、R_9またはR_{10}は、それぞれ、存在しない）
で示される部分であり；
（ｖ）R_4は、
Ｈ、C_{1-6}アルキル（例えば、メチル、イソプロピル）、
C_{3-8}シクロアルキル（例えば、シクロペンチル）、C_{3-8}ヘテロシクロアルキル（例えば、ピロリジン－３－イル）、アリール（例えば、フェニル）またはヘテロアリール（例えば、ピリド－４－イル、ピリド－２－イルまたはピラゾール－３－イル）であり、ここで、該アリールまたはヘテロアリールは、ハロ（例えば、４－フルオロフェニル）、ヒドロキシ（例えば、
４－ヒドロキシフェニル）、C_{1-6}アルキル、C_{1-6}アルコキシまたは別のアリール基（例えば、ビフェニル－４－イルメチル）で置換されていてもよく；
（ｖｉ）R_{14}およびR_{15}は、独立して、ＨまたはC_{1-6}アルキルである］
であることを提供する。

【００４３】

さらに別の実施態様において、本発明は、本明細書に記載の治療方法および予防方法に使用するためのＰＤＥ１阻害剤が、遊離形態または塩形態の式ＸＩＩ：

【化２１】



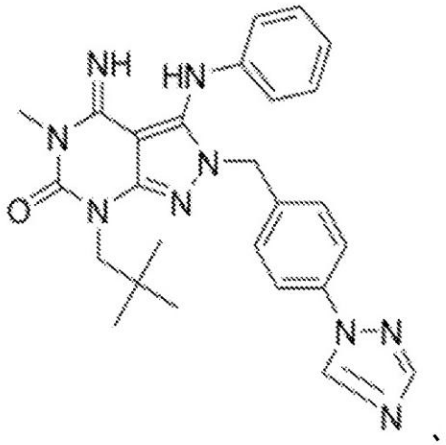
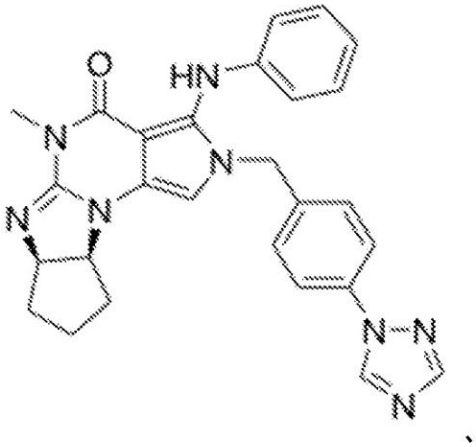
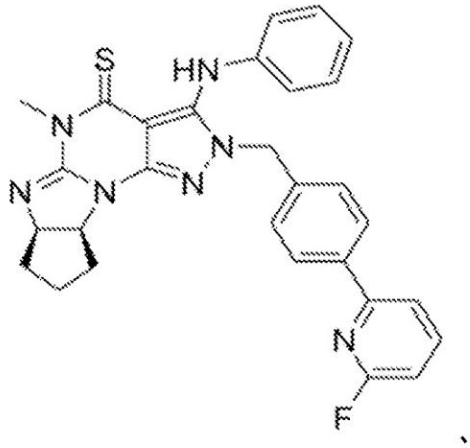
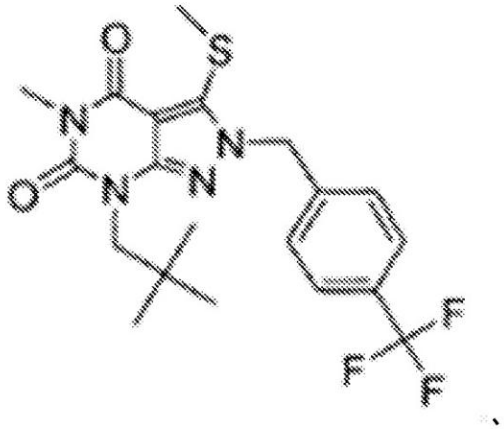
式XII

［式中、
（ｉ）R_1は、ＨまたはＣ$_{1-4}$アルキル（例えば、メチルまたはエチル）であり；
（ｉｉ）R_2およびR_3は、独立して、ＨまたはＣ$_{1-6}$アルキル（例えば、メチルまたはエチル）であり；
（ｉｉｉ）R_4は、ＨまたはＣ$_{1-4}$アルキル（例えば、メチルまたはエチル）であり；
（ｉｖ）R_5は、独立して、－Ｃ(＝Ｏ)－Ｃ$_{1-6}$アルキル（例えば、－Ｃ(＝Ｏ)－ＣＨ$_3$）およびＣ$_{1-6}$－ヒドロキシアルキル（例えば、１－ヒドロキシエチル）から選択される１個以上の基で置換されていてもよいアリール（例えば、フェニル）であり；
（ｖ）R_6およびR_7は、独立して、Ｃ$_{1-6}$アルキル（例えば、メチルまたはエチル）およびハロゲン（例えば、ＦまたはＣｌ）から選択される１個以上の基で置換されていてもよい、Ｈまたはアリール（例えば、フェニル）であり、例えば、非置換フェニル、または１個以上のハロゲン（例えば、Ｆ）で置換されているフェニル、または１個以上のＣ$_{1-6}$アルキルおよび１個以上のハロゲンで置換されているフェニル、または１個のＣ$_{1-6}$アルキルおよび１個のハロゲンで置換されているフェニル、例えば、４－フルオロフェニルまたは３,４－ジフルオロフェニルまたは４－フルオロ－３－メチルフェニルであり；
（ｖｉ）ｎは、１、２、３または４である］
であることを提供する。

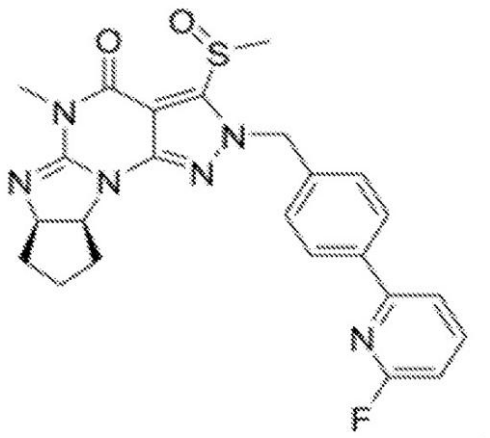
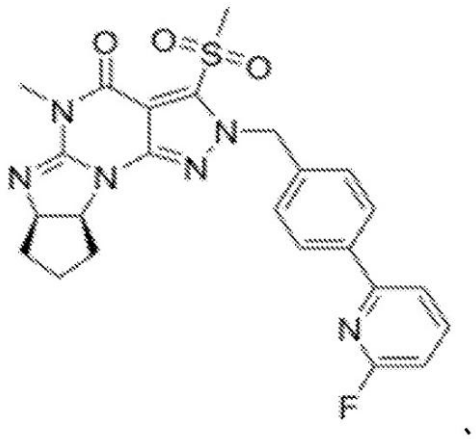
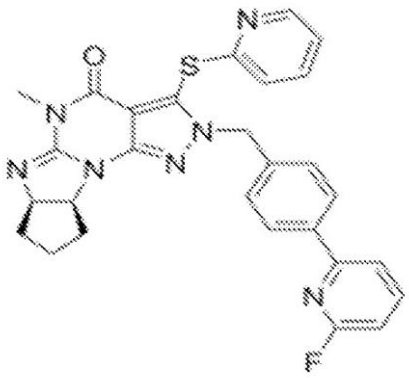
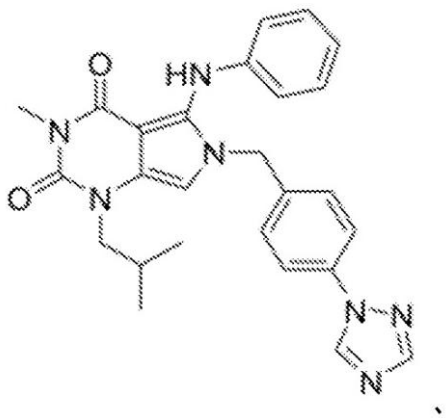
【００４４】

本発明は、また、上記の式（例えば、式Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、ＶＩ、ＶＩＩ、ＶＩＩＩ、ＩＸ、Ｘ、ＸＩ、ＸＩＩ）のいずれかで示されるＰＤＥ１阻害剤の使用を提供し、ここで、該化合物は、下記のものから選択される：

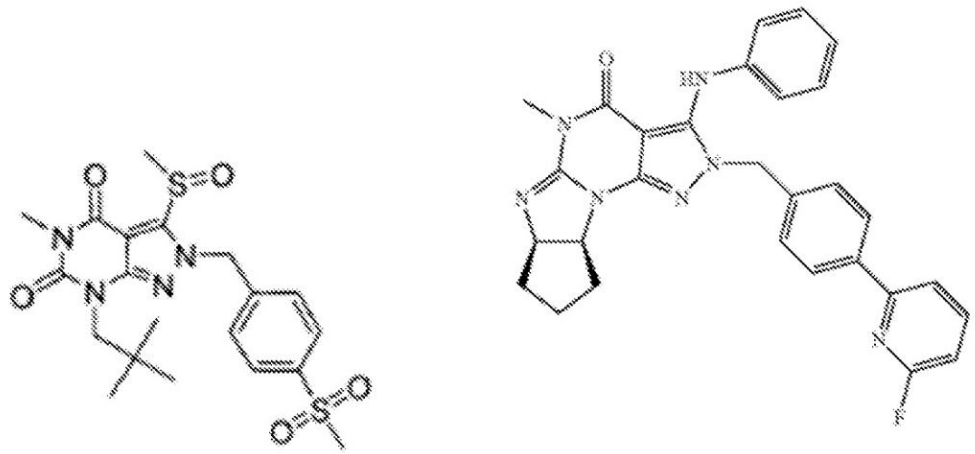
【化２２】

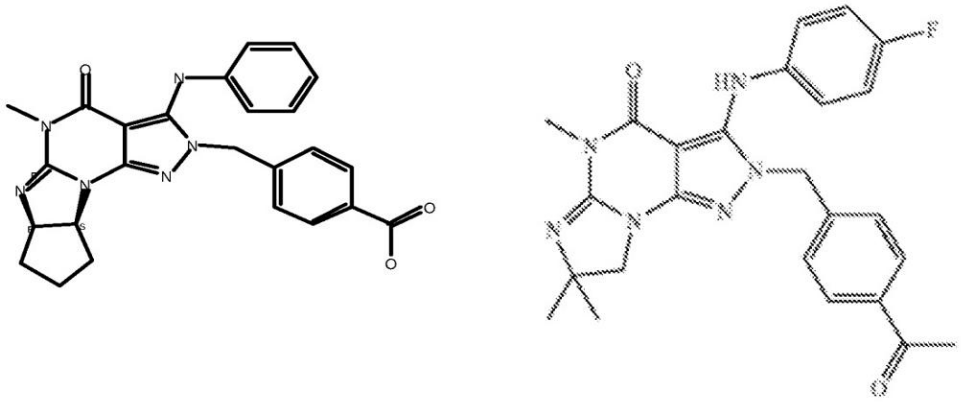

、

、

、

、

【化２３】


、

、

、

。

【化２４】

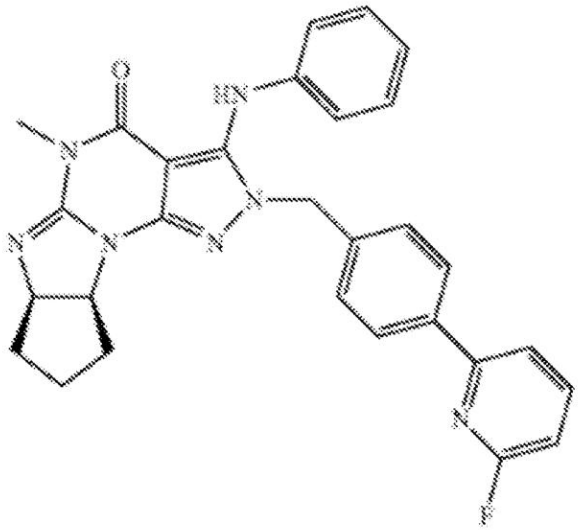




【００４５】

一の実施態様において、本発明は、炎症または炎症関連疾患もしくは障害の治療または予防のためのＰＤＥ１阻害剤の投与を提供する（ここで、該阻害剤は、下記：

【化２５】

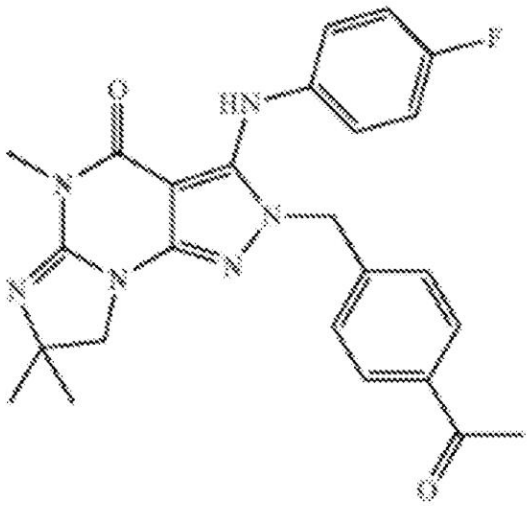


で示される化合物である）。

【００４６】

さらに別の実施態様において、本発明は、炎症または炎症関連疾患もしくは障害の治療または予防のためのＰＤＥ１阻害剤の投与を提供する（ここで、該阻害剤は、下記：

【化２６】



で示される化合物である）。

【００４７】

一の実施態様において、上記の式（例えば、式Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、ＶＩ、ＶＩＩ、ＶＩＩＩ、ＩＸ、Ｘ、ＸＩ、ＸＩＩ）のいずれかで示される選択的ＰＤＥ１阻害剤は、ｃＧＭＰのホスホジエステラーゼ－媒介（例えば、ＰＤＥ１媒介、特にＰＤＥ１Ｂ媒介）加水分解を阻害する化合物であり、例えば、好ましい化合物は、遊離形態または塩形態で、固定化金属親和性粒子試薬ＰＤＥアッセイにおいて１μＭ未満、好ましくは５００ｎＭ未満、好ましくは５０ｎＭ未満、好ましくは５ｎＭ未満のＩＣ$_{50}$を有する。

【００４８】

他に特定されていない場合または文脈から明らかでない場合、本明細書における以下の用語は、以下の意味を有する：

本明細書で用いられる場合、「アルキル」は、飽和または不飽和の炭化水素部分であり、好ましくは飽和しており、好ましくは１～６個の炭素原子を有しており、直鎖または分枝鎖であり得、例えばハロゲン（例えば、クロロまたはフルオロ）、ヒドロキシまたはカルボキシで、一置換、二置換または三置換されていてもよい。

本明細書で用いられる場合、「シクロアルキル」は、飽和または不飽和の非芳香族炭化水素部分であり、好ましくは飽和しており、好ましくは３～９個の炭素原子を含むものであり、少なくとも該炭素原子のうちいくつかは非芳香族の単環式環状もしくは二環式環状または架橋環状の構造を形成し、例えばハロゲン（例えば、クロロまたはフルオロ）、ヒドロキシまたはカルボキシで置換されていてもよい。シクロアルキルがＮおよびＯおよび／またはＳから選択される１個以上の原子を含有していてもよい場合、該シクロアルキルは、ヘテロシクロアルキルでもあり得る。

「ヘテロシクロアルキル」は、特記しない限り、飽和または不飽和の非芳香族炭化水素部分であり、好ましくは飽和しており、好ましくは３～９個の炭素原子を含むものであり、少なくとも該炭素原子のうちいくつかは非芳香族の単環式環状もしくは二環式環状または架橋環状の構造を形成し、ここで、少なくとも１個の炭素原子は、Ｎ、ＯまたはＳと置き換えられており、該ヘテロシクロアルキルは、例えばハロゲン（例えば、クロロまたはフルオロ）、ヒドロキシまたはカルボキシで置換されていてもよい。

本明細書で用いられる場合、「アリール」は、単環式または二環式の芳香族炭化水素であり、好ましくはフェニルであり、例えばアルキル（例えば、メチル）、ハロゲン（例えば、クロロまたはフルオロ）、ハロアルキル（例えば、トリフルオロメチル）、ヒドロキシ、カルボキシ、またはさらなるアリールもしくはヘテロアリール（例えば、ビフェニルまたはピリジルフェニル）で置換されていてもよい。

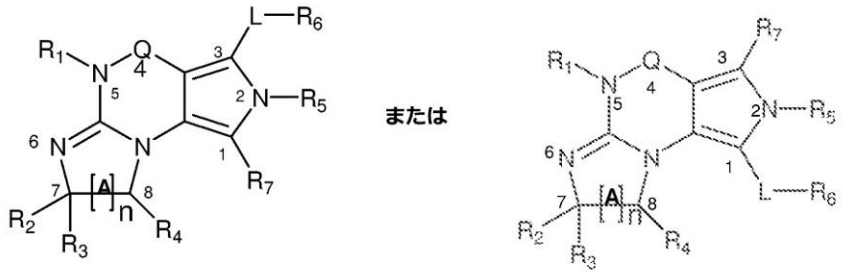
本明細書で用いられる場合、「ヘテロアリール」は、芳香族部分であり、ここで、該芳

香環を構成する原子のうち１個以上は、炭素よりもむしろ硫黄または窒素であり、例えばピリジルまたはチアジアゾリルであり、例えばアルキル、ハロゲン、ハロアルキル、ヒドロキシまたはカルボキシで置換されていてもよい。

【００４９】

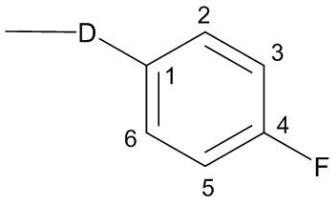
参照しやすいように、本発明の化合物のピラゾロ－ピリミジン核の原子は、特に断りのない限りまたは文脈から明かでない限り、式Ｉについて以下に示される番号付けに従って番号付けされる。

【化２７】



Ｅがフェニレンである場合、番号付けは、以下のとおりである：

【化２８】



【００５０】

置換基が「エン」で終わる場合、例えばアルキレン、フェニレンまたはアリールアルキレンである場合、該置換基は、２つの他の置換基を架橋しているかまたは連結していることを意図されている。従って、メチレンは、－ＣＨ$_2$－であることを意図されており、フェニレンは、－Ｃ$_6$Ｈ$_4$－であることを意図されており、アリールアルキレンは、－Ｃ$_6$Ｈ$_4$－ＣＨ$_2$－または－ＣＨ$_2$－Ｃ$_6$Ｈ$_4$－であることを意図されている。

【００５１】

本発明の化合物、例えば、置換４,５,７,８－テトラヒドロ－２Ｈ－イミダゾ[１,２－ａ]ピロロ[３,４－ｅ]ピリミジンまたは４,５,７,８,９－ペンタヒドロ－２Ｈ－ピリミド[１,２－ａ]ピロロ[３,４－ｅ]ピリミジン、例えば式Ｉ（式Ｉ－ＡおよびＩ－Ｂ）で示される化合物または式ＩＩ（例えば、ＩＩ－ＡまたはＩＩ－Ｂ）で示される化合物は、遊離形態または塩形態で存在し得、例えば酸付加塩として存在し得る。本明細書において、特記しない限り、「本発明の化合物」のような用語は、あらゆる形態、例えば遊離形態もしくは酸付加塩形態、または化合物が酸性置換基を含む場合には塩基付加塩形態の化合物を包含するものとして解されるべきである。本発明の化合物は、医薬としての使用を目的としており、したがって、薬学的に許容される塩が好ましい。医薬的使用に適していない塩は、例えば遊離の本発明の化合物またはそれらの薬学的に許容される塩の単離または精製に、有用であり得、したがって、それらも包含される。

【００５２】

本明細書に開示されている化合物のいずれかを包含する本発明の化合物、例えば、置換されていてもよい４,５,７,８－テトラヒドロ－(所望により４－チオキソまたは４－イミノ)－(１Ｈまたは２Ｈ)－イミダゾ[１,２－ａ]ピラゾロ[４,３－ｅ]ピリミジンまたは５,７,８,９－ペンタヒドロ－(１Ｈまたは２Ｈ)－ピリミド[１,２－ａ]ピラゾロ[４,３－ｅ]ピリミジン化合物、例えば(１または２および／または３および／または５)－置換されている４,５,７,８－テトラヒドロ－１Ｈ－イミダゾ[１,２－ａ]ピラゾロ[４,３－ｅ]ピリミジン、４,５,

７,８－テトラヒドロ－２Ｈ－イミダゾ[１,２－ａ]ピラゾロ[４,３－ｅ]ピリミジン、４,５,７,８－テトラヒドロ－(１Ｈまたは２Ｈ)－ピリミド[１,２－ａ]ピラゾロ[４,３－ｅ]ピリミジン－４(５Ｈ)－イミン、７,８－ジヒドロ－１Ｈ－イミダゾ[１,２－ａ]ピラゾロ[４,３－ｅ]ピリミジン－４(５Ｈ)－チオンまたは７,８－ジヒドロ－２Ｈ－イミダゾ[１,２－ａ]ピラゾロ[４,３－ｅ]ピリミジン－４(５Ｈ)－チオン化合物、例えば本明細書に記載の式ＩＩＩで示される化合物または式ＩＶで示される化合物は、遊離形態または塩形態で、例えば酸付加塩として、存在し得る。

【００５３】

本発明の化合物は、いくつかの場合、プロドラッグ形態でも存在し得る。プロドラッグ形態は、体内で本発明の化合物に変わる化合物である。例えば、本発明の化合物がヒドロキシまたはカルボキシ置換基を含む場合、これらの置換基は、生理学的に加水分解可能で許容されるエステルを形成し得る。本明細書で用いられる場合、「生理学的に加水分解可能で許容されるエステル」とは、生理学的条件下で加水分解可能であり、投与される用量で自体生理学的に許容される酸（ヒドロキシ置換基を有する本発明の化合物の場合）またはアルコール（カルボキシ置換基を有する本発明の化合物の場合）を生じる本発明の化合物のエステルを意味する。したがって、本発明の化合物がヒドロキシ基を含んでいる場合、例えば化合物－ＯＨの場合、このような化合物のアシルエステルプロドラッグ、すなわち、化合物－Ｏ－Ｃ(Ｏ)－$Ｃ_{1-4}$アルキルは、体内で加水分解して、一方では生理学的に加水分解可能なアルコール（化合物－ＯＨ）を、他方では酸（例えば、ＨＯＣ(Ｏ)－$Ｃ_{1-4}$アルキル）を形成することができる。別法として、本発明の化合物がカルボン酸を含んでいる場合、例えば化合物－Ｃ(Ｏ)ＯＨである場合、このような化合物の酸エステルプロドラッグ、すなわち、化合物－Ｃ(Ｏ)Ｏ－$Ｃ_{1-4}$アルキルは、加水分解して、化合物－Ｃ(Ｏ)ＯＨおよびＨＯ－$Ｃ_{1-4}$アルキルを形成することができる。したがって、理解されるように、この用語は、慣用の医薬プロドラッグ形態を包含する。

【００５４】

別の実施態様において、本発明は、また、遊離形態または薬学的に許容される塩形態の本発明の化合物を薬学的に許容される担体と混合して含む、抗炎症剤として使用するための医薬組成物を提供する。

【００５５】

本発明の化合物は、いくつかの場合、プロドラッグ形態で存在してもよい。プロドラッグ形態は、体内で本発明の化合物に変わる化合物である。例えば、本発明の化合物がヒドロキシまたはカルボキシ置換基を含んでいる場合、これらの置換基は、生理学的に加水分解可能で許容されるエステルを形成し得る。本明細書で用いられる場合、「生理学的に加水分解可能で許容されるエステル」とは、本明細書で用いられる場合、「生理学的に加水分解可能で許容されるエステル」とは、生理学的条件下で加水分解可能であり、投与される用量で自体生理学的に許容される酸（ヒドロキシ置換基を有する本発明の化合物の場合）またはアルコール（カルボキシ置換基を有する本発明の化合物の場合）を生じる本発明の化合物のエステルを意味する。したがって、本発明の化合物がヒドロキシ基を含んでいる場合、例えば化合物－ＯＨの場合、このような化合物のアシルエステルプロドラッグ、すなわち、化合物－Ｏ－Ｃ(Ｏ)－$Ｃ_{1-4}$アルキルは、体内で加水分解して、一方では生理学的に加水分解可能なアルコール（化合物－ＯＨ）を、他方では酸（例えば、ＨＯＣ(Ｏ)－$Ｃ_{1-4}$アルキル）を形成することができる。別法として、本発明の化合物がカルボン酸を含んでいる場合、例えば化合物－Ｃ(Ｏ)ＯＨである場合、このような化合物の酸エステルプロドラッグ、すなわち、化合物－Ｃ(Ｏ)Ｏ－$Ｃ_{1-4}$アルキルは、加水分解して、化合物－Ｃ(Ｏ)ＯＨおよびＨＯ－$Ｃ_{1-4}$アルキルを形成することができる。したがって、理解されるように、この用語は、慣用の医薬プロドラッグ形態を包含する。

【００５６】

別の実施態様において、本発明は、また、遊離形態、薬学的に許容される塩形態またはプロドラッグ形態の本発明の化合物を薬学的に許容される担体と混合して含む、抗炎症剤として使用するための医薬組成物を提供する。

【００５７】
本発明の化合物の製造方法
本発明の化合物およびそれらの薬学的に許容される塩は、本明細書に記載および例示された方法を用い、およびそれと同様の方法により、および化学技術において公知の方法により、製造され得る。このような方法としては、下記のものが挙げられるが、これらに限定されない。市販されていない場合これらの方法のための出発物質は、既知の化合物の合成と同様または類似の技術を用いて化学技術から選択される手順によって製造され得る。
【００５８】
さまざまな出発物質および／または本発明の化合物は、米国特許出願公開第２００８／０１８８４９２号、米国特許出願公開第２０１０／０１７３８７８号、米国特許出願公開第２０１０／０２７３７５４号、米国特許出願公開第２０１０／０２７３７５３号、国際公開第２０１０／０６５１５３号、国際公開第２０１０／０６５１５１号、国際公開第２０１０／０６５１５１号、国際公開第２０１０／０６５１４９号、国際公開第２０１０／０６５１４７号、国際公開第２０１０／０６５１５２号、国際公開第２０１１／１５３１２９号、国際公開第２０１１／１３３２２４号、国際公開第２０１１／１５３１３５号、国際公開第２０１１／１５３１３６号、国際公開第２０１１／１５３１３８号および米国特許第９,０７３,９３６号（各々の記載内容は出典明示によりその全体として本明細書の一部を構成する）に記載されている方法を用いて製造され得る。
【００５９】
本発明の化合物は、それらのエナンチオマー、ジアステレオ異性体およびラセミ体、ならびにそれらの多形体、水和物、溶媒和物および錯体を包含する。本発明の範囲内のいくつかの個々の化合物は、二重結合を含み得る。本発明における二重結合の表現は、二重結合のＥ異性体およびＺ異性体の両方を含むことを意味する。加えて、本発明の範囲内のいくつかの化合物は、１個以上の不斉中心を含み得る。本発明は、光学的に純粋な立体異性体のいずれかおよび立体異性体の組合せの使用を包含する。
【００６０】
本発明の化合物は、それらの安定な同位体および不安定な同位体を包含することも意図される。安定な同位体は、同種の大量に存在する核種（すなわち元素）と比較して１つのさらなる中性子を含んでいる非放射性同位体である。そのような同位体を含む化合物の活性は保持され、このような化合物は非同位体類似体の薬物動態を測定するための有用性も有すると予想される。例えば、本発明の化合物のある位置にある水素原子を重水素（非放射性である安定な同位体）と置き換えることができる。既知の安定な同位体の例としては、重水素、^{13}Ｃ、^{15}Ｎ、^{18}Ｏが挙げられるが、これらに限定されない。別法として、同種の大量に存在する核種（すなわち、元素）と比較してさらなる中性子を含んでいる放射性同位体である不安定な同位体、例えば、^{123}Ｉ、^{131}Ｉ、^{125}Ｉ、^{11}Ｃ、^{18}Ｆは、対応するＩ、ＣおよびＦの豊富な種と置き換わる。本発明の化合物の有用な同位体の別の例は、^{11}Ｃ同位体である。これらの放射性同位体は、本発明の化合物の放射性イメージングおよび／または薬物動態研究に有用である。
【００６１】
融点は未補正であり、（ｄｅｃ）は分解を示す。温度は摂氏度（℃）で示される；特記しない限り、操作は、室温または周囲温度、すなわち、１８～２５℃の範囲の温度で実施される。クロマトグラフィーとは、フラッシュシリカゲルクロマトグラフィーを意味する；薄層クロマトグラフィー（ＴＬＣ）は、シリカゲルプレートで実施される。ＮＭＲデータは、主要な特徴的プロトンのデルタ値であり、内部基準としてのテトラメチルシラン（ＴＭＳ）に対する百万分率（ｐｐｍ）で示される。シグナル形状についての慣用の略語が使用される。結合定数（Ｊ）はＨｚで示される。マススペクトル（ＭＳ）について、同位体分裂が複数のマススペクトルピークをもたらす分子については最低質量主イオンが報告される。溶媒混合物組成は、体積百分率または体積比として示される。ＮＭＲスペクトルが複雑である場合、特徴的なシグナルだけが報告される。
【００６２】

用語および略語：
ＢｕＬｉ　＝　ｎ－ブチルリチウム、
ＢｕｔＯＨ　＝　tert－ブチルアルコール、
ＣＡＮ　＝　硝酸アンモニウムセリウム(ＩＶ)、
ＤＩＰＥＡ　＝　ジイソプロピルエチルアミン、
ＤＭＦ　＝　Ｎ,Ｎ－ジメチルホルムアミド、
ＤＭＳＯ　＝　ジメチルスルホキシド、
Et_2O　＝　ジエチルエーテル、
ＥｔＯＡｃ　＝　酢酸エチル、
equiv.　＝　当量、
ｈ　＝　時間、
ＨＰＬＣ　＝　高速液体クロマトグラフィー、
ＬＤＡ　＝　リチウムジイソプロピルアミド、
ＭｅＯＨ　＝　メタノール、
ＮＢＳ　＝　Ｎ－ブロモスクシンイミド、
ＮＣＳ　＝　Ｎ－クロロスクシンイミド、
$NaHCO_3$　＝　重炭酸ナトリウム、
NH_4OH　＝　水酸化アンモニウム、
$Pd_2(dba)_3$　＝　トリス[ジベンジリデンアセトン]ジパラジウム(０)
ＰＭＢ　＝　ｐ－メトキシベンジル、
$POCl_3$　＝　オキシ塩化リン、
$SOCl_2$　＝　塩化チオニル、
ＴＦＡ　＝　トリフルオロ酢酸、
ＴＦＭＳＡ　＝　トリフルオロメタンスルホン酸、
ＴＨＦ　＝　テトラヒドロフラン。

【００６３】

本発明の化合物の使用方法

本発明の化合物は、炎症性疾患または状態、特に神経炎症性疾患または状態の治療に有用である。したがって、本明細書に記載の好ましいＰＤＥ１阻害剤、例えば上記のＰＤＥ１阻害剤、例えば式Ｉａ、Ｉｂ、ＩＩａ、ＩＩｂ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、ＶＩ、ＶＩＩ、ＶＩＩＩ、ＩＸ、Ｘ、ＸＩ、ＸＩＩで示される化合物の投与または使用は、炎症を調節する（例えば、神経炎症、および神経炎症に関連する疾患または障害を予防し、軽減し、および／または回復に向かわせる）手段を提供し、ある実施態様においては、さまざまな炎症性疾患および障害の治療を提供する。

【００６４】

例えば、一の実施態様において、本発明は、必要とする患者にＩ型ホスホジエステラーゼ（ＰＤＥ１）の特異的阻害剤の有効量を等することを含む、炎症または炎症と関連する疾患の治療または予防の方法（方法１）、例えば下記の方法を提供する：

１.１．神経炎症、ならびに／または、神経炎症および／またはミクログリア機能に関連する疾患または障害を治療する方法である方法１。

１.２．治療される疾患または障害が下記から選択される、必要とする患者に本発明のＰＤＥ１阻害剤（例えば、本明細書に記載の式Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、ＶＩ、ＶＩＩ、ＶＩＩＩ、ＩＸ、Ｘ、ＸＩおよび／またはＸＩＩのＰＤＥ１阻害剤）の有効量、例えば、（ｉ）Ｍ１ミクログリアの活性化の軽減または阻害に有効な量、および／または（ｉｉ）１種類以上の炎症誘発性サイトカイン（例えば、ＩＬ１β、ＴＮＦαおよびＣｃｌ２、またはそれらの組合せ）のレベルの減少に有効な量を投与することを含む方法１または１.１：

ａ．神経変性状態、例えばアルツハイマー病（ＡＤ）、パーキンソン病（ＰＤ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、および脱髄性状態、例えば多発性硬化症（ＭＳ）、およびプリオン病；

ｂ．脳卒中、心停止、低酸素症、脳出血または外傷性脳損傷；

ｃ．うつ病、統合失調症、心的外傷後ストレス障害、不安、注意欠陥障害および双極性疾患を包含する、異常な神経伝達物質産生および／または反応によって特徴付けられる状態；例えば、上記のいずれかが神経炎症に関連している場合；および

ｄ．慢性ＣＮＳ感染症、例えばライム病、または免疫抑制状態の結果生じるＣＮＳ感染症、例えばＨＩＶ認知症；

ｅ．化学療法の結果生じる神経炎症。

１.３．治療される疾患または障害が、例えばアルツハイマー病（ＡＤ）、パーキンソン病（ＰＤ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、および脱髄性状態、例えば多発性硬化症（ＭＳ）、およびプリオン病から選択される、神経変性状態である上記のいずれかの方法。

１.４．治療される疾患または障害が、脳卒中、心停止、低酸素症、脳出血および外傷性脳損傷から選択される、上記のいずれかの方法。

１.５．治療される疾患または障害が、例えばうつ病、統合失調症、心的外傷後ストレス障害、不安、注意欠陥障害および双極性疾患から選択される、異常な神経伝達物質産生および／または反応によって特徴付けられる状態である、例えば上記のいずれかが神経炎症に関連している、上記のいずれかの方法。

１.６．治療される疾患または障害が、慢性ＣＮＳ感染症、例えばライム病、または免疫抑制状態の結果生じるＣＮＳ感染症、例えばＨＩＶ認知症から選択される、上記のいずれかの方法。

１.７．治療される疾患または障害が、化学療法の結果生じる神経炎症である、上記のいずれかの方法。

１.８．必要とする患者に、本発明のＰＤＥ１阻害剤（例えば、本明細書に記載の式Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、ＶＩ、ＶＩＩ、ＶＩＩＩ、ＩＸ、Ｘ、ＸＩおよび／またはＸＩＩのＰＤＥ１阻害剤）の有効量、例えば、（ｉ）Ｍ１ミクログリアの活性化の軽減または阻害に有効な量、および／または（ｉｉ）１種類以上の炎症誘発性サイトカイン（例えば、ＩＬ１β、ＴＮＦα、ＩＬ６およびＣｃｌ２、またはそれらの組み合わせ）のレベルを減少させるのに有効な量を投与することを含む、上記のいずれかの方法。

１.９．必要とする患者に、抗炎症性サイトカイン（例えば、ＩＬ－１０）に対して有効な量で、本発明のＰＤＥ１阻害剤（例えば、本明細書に記載の式Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、ＶＩ、ＶＩＩ、ＶＩＩＩ、ＩＸ、Ｘ、ＸＩおよび／またはＸＩＩのＰＤＥ１阻害剤）の有効量を投与することを含む、上記のいずれかの方法。

１.１０．必要とする患者に、ミクログリアＭ１表現型のレベルを減少させるのに有効なおよび／またはミクログリアＭ２表現型のレベルを増加させるのに有効な量で、本発明のＰＤＥ１阻害剤（例えば、本明細書に記載の式Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、ＶＩ、ＶＩＩ、ＶＩＩＩ、ＩＸ、Ｘ、ＸＩおよび／またはＸＩＩのＰＤＥ１阻害剤）の有効量を投与することを含む、上記のいずれかの方法。

１.１１．ＰＤＥ１阻害剤が、式Ｉａ、Ｉｂ、ＩＩａ、ＩＩｂ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、ＶＩ、ＶＩＩ、ＶＩＩＩ、ＩＸ、Ｘ、ＸＩ、ＸＩＩの化合物である、上記のいずれかの方法。

１.１２．神経炎症が、脳におけるミクログリア細胞（例えば、Ｍ１ミクログリア細胞）の発現および／または活性化の増加と関連する、上記のいずれかの方法。

１.１３．ＰＤＥ１阻害剤が、脳における、例えばＩＬ１Ｂ、ＩＬ－６、ＴＮＦα、Ｃｃｌ２、一酸化窒素（ＮＯ）および活性酸素種（ＲＯＳ）からなる群から選択される炎症誘発性サイトカインの発現および／または活性を鈍化させるかまたは阻害する、上記のいずれかの方法。

１.１４．ＰＤＥ１阻害剤が、ＰＤＥ４阻害剤（例えば、ロリプラム）と組み合わせて投与される、上記のいずれかの方法。

１.１５．患者が、炎症誘発性サイトカイン（例えば、ＩＬ１Ｂ、ＩＬ６、ＴＮＦα、Ｃｃｌ２）のレベルの増加を示している、上記のいずれかの方法。

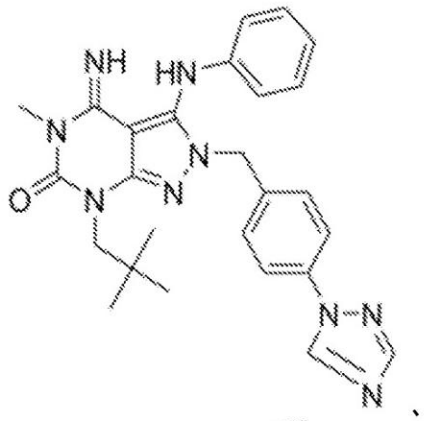
１.１６．「ＰＤＥ１阻害剤」が、例えば固定化金属親和性粒子試薬ＰＤＥアッセイにおいて１μＭ未満、好ましくは７５０ｎＭ未満、より好ましくは５００ｎＭ未満、より好ま

しくは５０ｎＭ未満のＩＣ$_{50}$をもって、ｃＧＭＰのホスホジエステラーゼ媒介（例えば、ＰＤＥ１媒介、特に、ＰＤＥ１Ｂ媒介）加水分解を選択的に阻害する化合物を表す、上記のいずれかの方法。

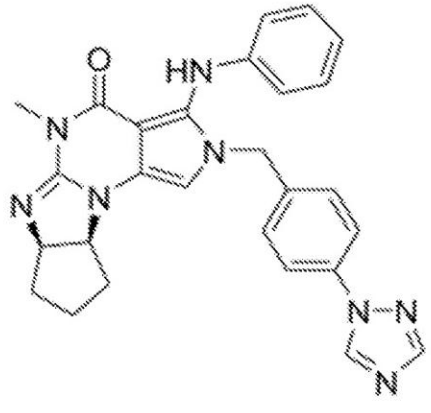
１.１７．ＰＤＥ１阻害剤が、１０ｎＭ未満のＩＣ$_{50}$をもって、ＰＤＥ１（例えば、実施例１に記載のアッセイにおけるウシＰＤＥ１）の活性を阻害し、例えばＰＤＥ１阻害剤が、ＰＤＥ１以外のタイプのＰＤＥの活性を阻害せず、例えば、ＰＤＥ１以外のタイプのＰＤＥに対して少なくとも１０００倍のＩＣ$_{50}$を有する、上記のいずれかの方法。

１.１８．ＰＤＥ１阻害剤が、下記：

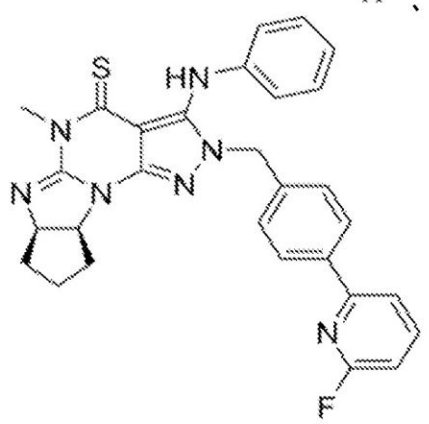
【化２９】



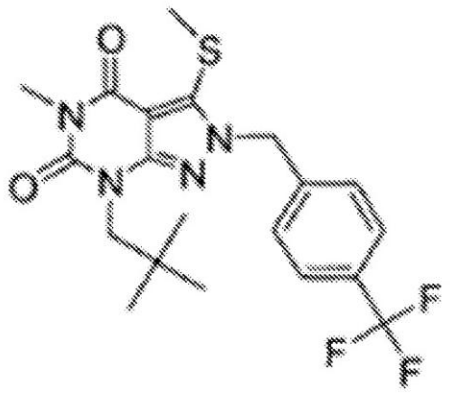
、



、

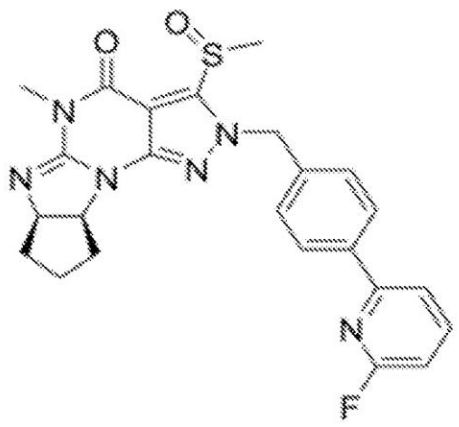
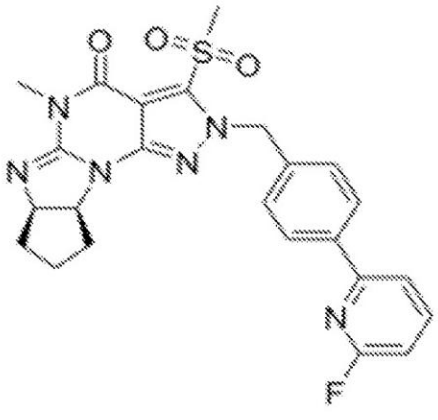
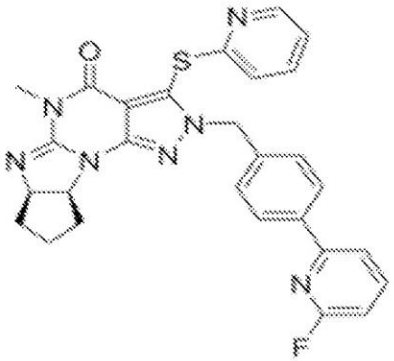
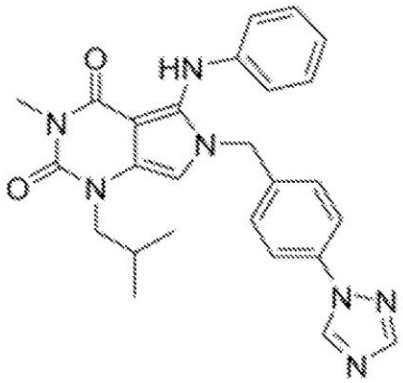


、

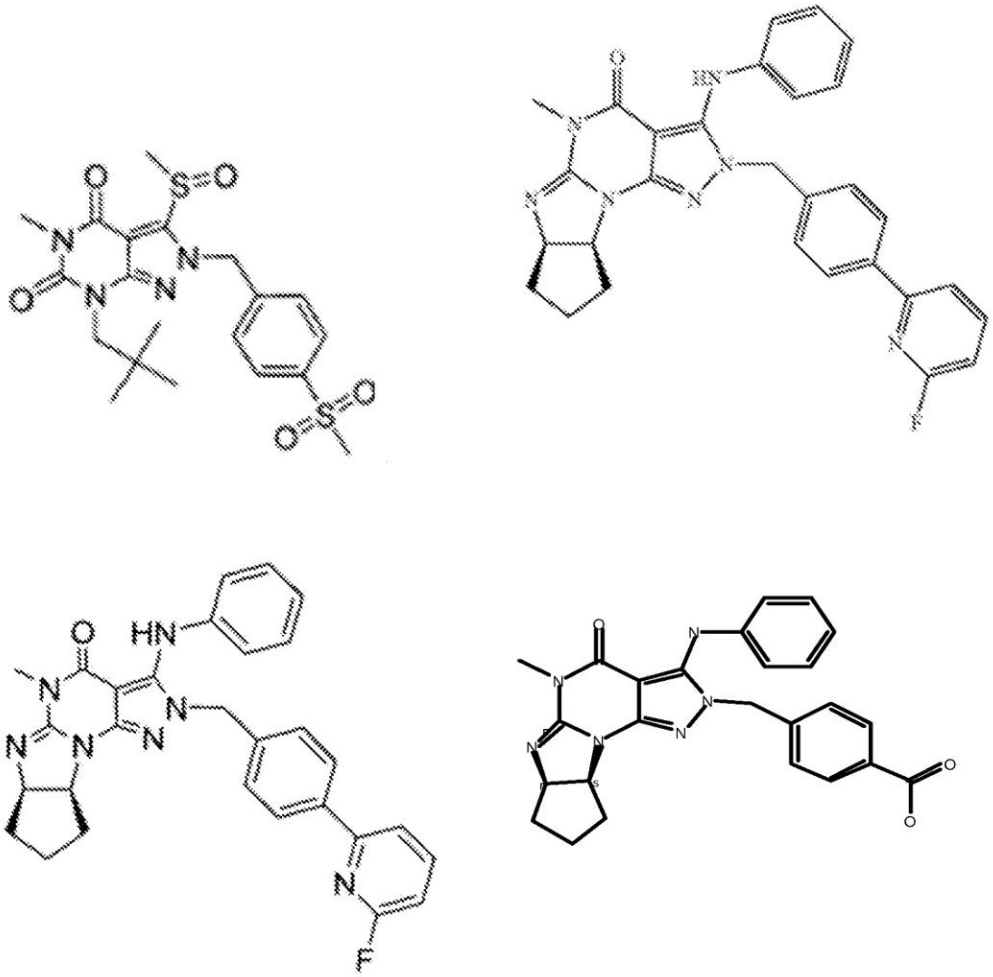


、

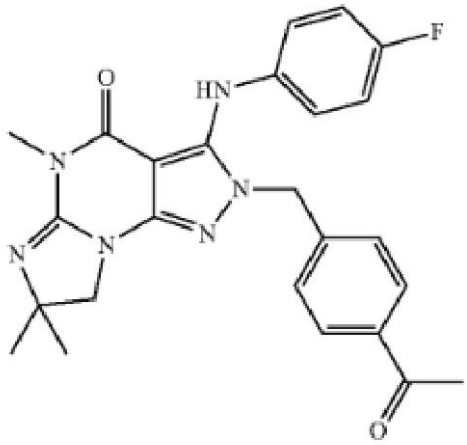
【化３０】


、

、

、

、

【化３１】



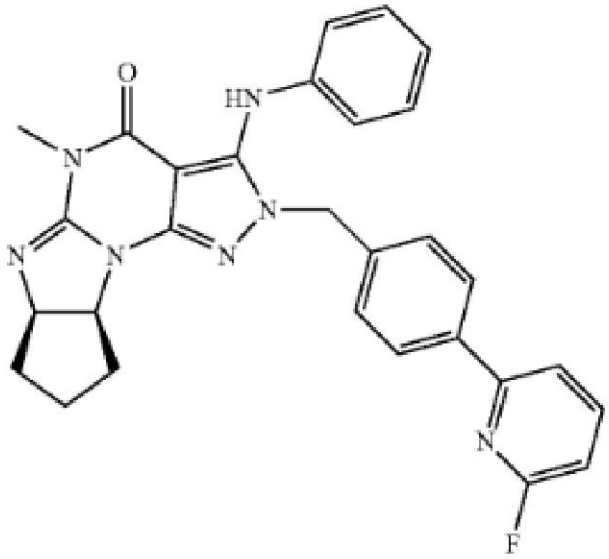
【化３２】



のいずれかから選択される、上記のいずれかの方法。

１.１９．ＰＤＥ１阻害剤が、下記：

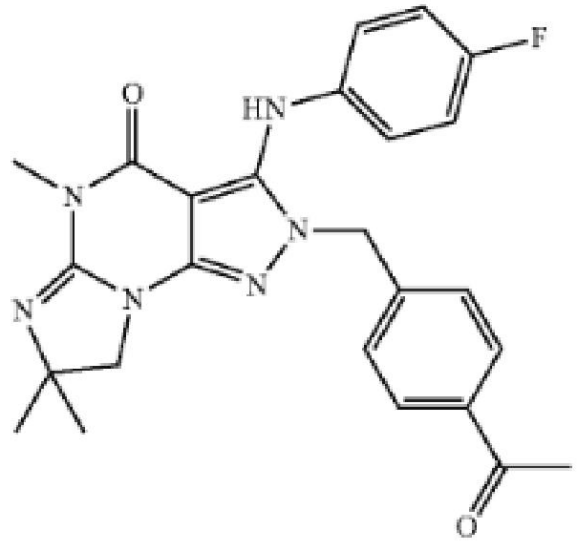
【化３３】



である、上記のいずれかの方法。

１.２０．ＰＤＥ１阻害剤が、下記：

【化３４】



である、上記のいずれかの方法。

１.２１．ＰＤＥ１阻害剤が、１種類以上の抗うつ薬の有効量と、例えば選択的セロトニン再取り込み阻害剤（ＳＳＲＩ）、セロトニン・ノルエピネフリン再取り込み阻害剤（ＳＮＲＩ）、三環系抗うつ薬（ＴＣＡ）および非定型抗精神病薬から選択される遊離形態または薬学的に許容される塩形態の１種類以上の化合物と、例えば

（ａ）選択的セロトニン再取り込み阻害剤（ＳＳＲＩ）、例えば、シタロプラム（Citalopram）（セレクサ（Celexa））、エスシタプラム（Escitalopram）（レクサプロ（Lexapro）、シプラレックス（Cipralex））、パロキセチン（Paroxetine）（パキシル（Paxil）、セロキサット（Seroxat））、フルオキセチン（Fluoxetine）（プロザック（Prozac））、フルボキサミン（Fluvoxamine）（ルボックス（Luvox））、セルトラリン（Sertraline）（ゾロフト（Zoloft）、ルストラル（Lustral））；

（ｂ）セロトニン・ノルエピネフリン再取り込み阻害剤（ＳＮＲＩ）、例えば、デ

スベンラファキシン（Desvenlafaxine）（プリスティーク（Pristiq））、デュロキセチン（Duloxetine）（サインバルタ（Cymbalta））、レボミルナシプラン（Levomilnacipran）（フェトジーマ（Fetzima））、ミルナシプラン（Milnacipran）（イクセル（Ixel）、サベラ（Savella））、トフェナシン（Tofenacin）（エラモール（Elamol）、トファシン（Tofacine））、ベンラファキシン（Venlafaxine）（エフェクサー（Effexor））；

ｃ）三環系抗うつ薬（ＴＣＡ）、例えば、アミトリプチン（Amitriptyline）（エラビル（Elavil）、エンデプ（Endep））、アミトリプチリンオキシド（アミオキシド（Amioxid）、アンビバロン（Ambivalon）、エキリブリン（Equilibrin））、クロミプラミン（Clomipramine）（アナフラニール（Anafranil））、デシプラミン（Desipramine）（ノルプラミン（Norpramin）、ペルトフラン（Pertofrane））、ジベンゼピン（Dibenzepin）（ノベリル（Noveril）、ビクトリル（Victoril））、ジメタクリン（Dimetacrine）（イストニール（Istonil））、ドスレピン（Dosulepin）（プロチアデン（Prothiaden））、ドキセピン（Doxepin）（アダピン（Adapin）、シネクアン（Sinequan））、イミプラミン（Imipramine）（トフラニール（Tofranil））、ロフェプラミン（Lofepramine）（ロモント（Lomont）、ガマニル（Gamanil））、メリトラセン（Melitracen）（ジキセラン（Dixeran）、メリキセラン（Melixeran）、トラウサブン（Trausabun））、ニトロキサゼピン（Nitroxazepine）（シンタミル（Sintamil））、ノルトリプチリン（Nortriptyline）（パメラー（Pamelor）、アベンチル（Aventyl））、ノキシプチリン（Noxiptiline）（アゲダール（Agedal）、エルロノン（Elronon）、ノゲダール（Nogedal））、ピポフェジン（Pipofezine）（アザフェン（Azafen）／アザフェン（Azaphen））、プロトリプチリン（Protriptyline）（ビバクチル（Vivactil））、トリミプラミン（Trimipramine）（スルモンチール（Surmontil））；

ｄ）非定型抗精神病薬、例えば、アリピプラゾール（Aripiprazole）（アビリファイ（Abilify））、アセナピン（Asenapine）（サフリス（Saphris））、ブレクスピプラゾール（Brexpiprazole）（レキサルティ（Rexulti））、クロザピン（Clozapine）（クロザリル（Clozaril））、ルマテペロン（Lumateperone）、ルラシドン（Lurasidone）（ラツーダ（Latuda））、オランザピン（Olanzapine）（ジプレキサ（Zyprexa））、ｐリペリドン（Paliperidone）（インヴェガ（Invega））、クエチアピン（Quetiapine）（セロクエル（Seroquel））、リスペリドン（Risperidone）（リスパダール（Risperdal））、セルチンドール（Sertindole）（セルドレクト（Serdolect）、セルレクト（Serlect））、ジプラシドン（Ziprasidone）（ジオドン（Geodon））

から選択される遊離形態または薬学的に許容される塩形態の１種類以上の化合物と組み合わせて投与される（例えば、連続して、または同時に、または２４時間以内に投与される）る、上記のいずれかの方法。

１.２２．抗うつ薬が、非定型抗精神病薬、例えば、遊離形態または薬学的に許容される塩形態のルマテペロン（Lumateperone）である、方法１.２１。

１.２３．抗うつ薬が、ＳＳＲＩ、例えば、遊離形態または薬学的に許容される塩形態のフルオキセチン（Fluoxetine）またはエスシタプラム（Escitalopram）である、方法１.２１。

１.２４．患者が、１種類以上の炎症誘発性サイトカイン（例えば、ＩＬ１β、ＴＮＦα、Ｃｃｌ２、ＩＬ－６、およびそれらの組み合わせから選択される）のレベル上昇を有する、上記の方法のいずれか。

１.２５．患者が、１種類以上の抗炎症性サイトカイン（例えば、ＩＬ－１０）のレベル減少を有する、上記の方法のいずれか。

１.２６．患者が、ミクログリアＭ２表現型と比べたミクログリアＭ１表現型のレベル上昇を有する、上記の方法のいずれか。

１.２７．患者が、図１０または図１１に記載されたサイトカインのうち１種類以上の異常なレベル（例えば、参照基準と比べて異常なレベル）を有する、上記の方法のいずれか。

１.２８．ＰＤＥ１阻害剤が、慢性神経炎症または慢性神経炎症に関連する疾患を治療ま

たは予防するために投与される、上記の方法のいずれか。
１.２９．ＰＤＥ１阻害剤が、視神経損傷を有する患者に投与される、上記の方法のいずれか。
１.３０．ＰＤＥ１阻害剤が、網膜神経節におけるＰＤＥ１の発現を増加させる、１.２９の方法。
１.３１．ＰＤＥ１阻害剤の投与が、網膜神経節細胞の生存率を増大させる（例えば、参照基準または対照と比べて増大させる）、１.２９または１.３０の方法。
【００６５】
本発明は、また、方法１およびそれ以降のいずれかにおいて用いるための医薬の製造における、ＰＤＥ１阻害剤、例えば式Ｉ、式ＩＩ、式ＩＩＩ、式ＩＶ、式Ｖ、式ＶＩ、式ＶＩＩ、式ＶＩＩＩ、式ＩＸ、式Ｘ、式ＸＩまたは式ＸＩＩの化合物のいずれかの使用を提供する。
【００６６】
本発明は、また、方法１およびそれ以降のいずれかにおいて用いるための、ＰＤＥ１阻害剤、例えば式Ｉ、式ＩＩ、式ＩＩＩ、式ＩＶ、式Ｖ、式ＶＩ、式ＶＩＩ、式ＶＩＩＩ、式ＩＸ、式Ｘ、式ＸＩまたは式ＸＩＩの化合物を提供する。
【００６７】
本発明は、また、方法１およびそれ以降のいずれかにおいて用いるための医薬組成物であって、ＰＤＥ１阻害剤、例えば式Ｉ、式ＩＩ、式ＩＩＩ、式ＩＶ、式Ｖ、式ＶＩ、式ＶＩＩ、式ＶＩＩＩ、式ＩＸ、式Ｘ、式ＸＩまたは式ＸＩＩの化合物を含む医薬組成物を提供する。
【００６８】
語句「本発明の化合物」または「本発明のＰＤＥ１阻害剤」、または類似の用語は、本明細書に記載されたあらゆる化合物、例えば式Ｉ、式ＩＩ、式ＩＩＩ、式ＩＶ、式Ｖ、式ＶＩ、式ＶＩＩ、式ＶＩＩＩ、式ＩＸ、式Ｘ、式ＸＩまたは式ＸＩＩの化合物を包含する。
【００６９】
用語「治療」および「治療すること」は、したがって、疾患の症状の予防および治療または寛解ならびに疾患の原因の治療を包含するものと解されるべきである。
【００７０】
治療の方法について、用語「有効量」は、特定の疾患もしくは障害および／またはその症状を治療または軽減するために、および／または、例えばミクログリアによって生じるような、炎症性サイトカインを減少させるために、および／または、Ｍ１ミクログリア活性化を減少させるために、および／または、例えばミクログリアによって生じるような、抗炎症性サイトカインを増加させるために、および／または、Ｍ２ミクログリア活性化を増強するために、治療上有効な量を包含することを意図する。
【００７１】
用語「患者」は、ヒトまたは非ヒト（すなわち、動物）患者を包含する。特定の実施態様において、本発明は、ヒトおよび非ヒト動物の両方を包含する。別の実施態様において、本発明は、非ヒト動物を包含する。他の実施態様において、当該用語はは、ヒトを包含する。
【００７２】
本開示において用いられる場合、用語「～を含む」は、無制限であることを意図しており、列挙されていないさらなる要素または方法ステップを排除するものではない
【００７３】
遊離形態または薬学的に許容される塩形態の、本発明の化合物、例えば上記の式Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、ＶＩ、ＶＩＩ、ＶＩＩＩ、ＩＸ、Ｘ、ＸＩおよびＸＩＩの化合物は、単独の治療剤として使用することができるが、他の活性薬剤と組み合わせてまたは共投与するために使用することもできる。
【００７４】
例えば、ある実施態様においては、遊離形態または薬学的に許容される塩形態の、本発

明の化合物、例えば上記の式Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、ＶＩ、ＶＩＩ、ＶＩＩＩ、ＩＸ、Ｘ、ＸＩおよびＸＩＩの化合物は、他の活性薬剤と、例えば１種類以上の抗うつ薬と、例えば選択的セロトニン再取り込み阻害剤（ＳＳＲＩ）、セロトニン・ノルエピネフリン再取り込み阻害剤（ＳＮＲＩ）、ｃ）三環系抗うつ薬（ＴＣＡ）および非定型抗精神病薬から選択される遊離形態または薬学的に許容される塩形態の１種類以上の化合物と組み合わせて、投与され得る（例えば、連続して、または同時に、または２４時間以内に投与され得る）。

【００７５】

本発明を実施する際に用いられる用量は、もちろん、例えば治療される特定の疾患または状態、使用される特定の本発明の化合物、投与様式、および所望の療法によって異なる。本発明の化合物は、経口、非経口、経皮、または吸入を含む適切な経路によって投与され得るが、好ましくは経口投与される。一般的には、例えば上記したような疾患の治療の、満足のいく結果は、約０.０１～２.０ｍｇ／ｋｇのオーダーの投与量での経口投与で得られることが示されている。したがって、大型哺乳動物、例えばヒトにおいて、示された経口投与のための日用量は、約０.７５～１５０ｍｇ（投与される薬物および治療される状態に依存する、例えば化合物２１４の場合、神経炎症状態の治療のために、例えばーリン酸塩形態で、１日に０.５～２５ｍｇ、例えば１日に１～１０ｍｇ）の範囲であり、好都合には、１日１回または１日２～４回の分割用量で、または持続放出形態で、投与される。かくして、経口投与のための他に投与剤形は、例えば、本発明の化合物約０.２～７５または１５０ｍｇ、例えば、約０.２または２.０～５０、７５または１００ｍｇ（例えば、１、２.５、５、１０、または２０ｍｇ）を、例えば薬学的に許容される希釈剤または担体と一緒に、含むことができる。

【００７６】

本発明の化合物を含む医薬組成物は、慣用の希釈剤または賦形剤、ならびにガレン分野（galenic art）で知られている技術を用いて調製され得る。かくして、経口投与剤形としては、錠剤、カプセル剤、液剤、懸濁剤などを挙げることができる。

【実施例】

【００７７】

実施例１

ＩＭＡＰホスホジエステラーゼアッセイキットを用いるインビトロでのＰＤＥＩＢ阻害の測定

ホスホジエステラーゼＩＢ（ＰＤＥＩＢ）は、環状グアノシンーリン酸（ｃＧＭＰ）を５'－グアノシンーリン酸（５'－ＧＭＰ）に変換するカルシウム／カルモジュリン依存性ホスホジエステラーゼ酵素である。ＰＤＥＩＢは、また、蛍光性分子ｃＧＭＰ－フルオロセインのような修飾ｃＧＭＰ基質を対応するＧＭＰ－フルオロセインに変換することができる。ｃＧＭＰ－フルオロセインからのＧＭＰ－フルオロセインの生成は、例えばＩＭＡＰ（Molecular Devices, Sunnyvale, CA）固定化金属親和性粒子試薬を用いて、定量化することができる。

【００７８】

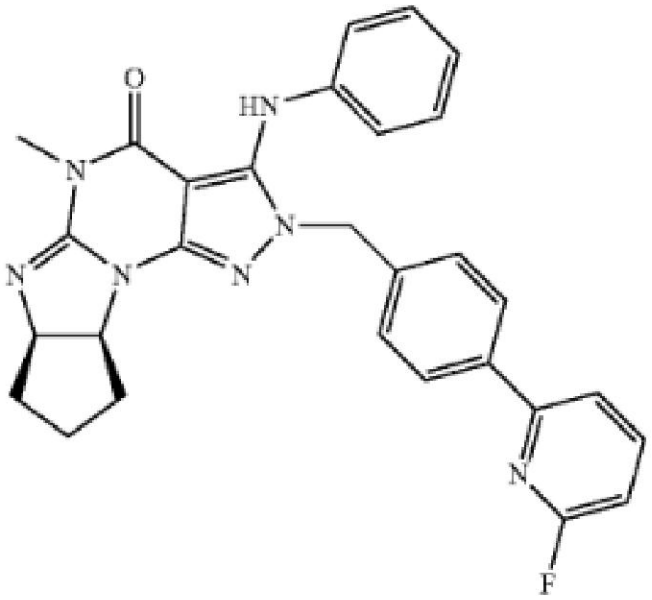
簡潔には、ＩＭＡＰ試薬は、ＧＭＰ－フルオロセインには見られるが、ｃＧＭＰ－フルオロセインには見られない遊離５'－リン酸と高い親和性をもって結合する。得られたＧＭＰ－フルオロセイン－ＩＭＡＰ複合体は、ｃＧＭＰ－フルオロセインに比べて大きい。大きくてゆっくり転がる複合体に束縛されている小さなフルオロフォアは、未結合のフルオロフォアと区別することができる。なぜならばそれらが蛍光を発するときに放出される光子は蛍光を励起するのに使用されるフォトンと同じ極性を保持しているからである。

【００７９】

ホスホジエステラーゼアッセイにおいて、ＩＭＡＰと結合することができないために小さな蛍光偏光を保持するｃＧＭＰ－フルオロセインは、ＩＭＡＰと結合した場合に蛍光偏光（ΔｍＰ）が大幅に増加するＧＭＰ－フルオロセインに変換される。したがって、ホスホジエステラーゼの阻害は、ΔｍＰの減少として検出される。

【００８０】
酵素アッセイ
材料：Molecular Devices（Sunnyvale, CA）から入手されるＩＭＡＰ試薬（反応バッファー、結合バッファー、ＦＬ－ＧＭＰおよびＩＭＡＰビーズ）以外の化学物質は全て、Sigma-Aldrich（St. Louis, MO）から入手される。
【００８１】
アッセイ：下記のホスホジエステラーゼ酵素を使用し得る：３',５'－環状－ヌクレオチド－特異的ウシ脳ホスホジエステラーゼ（Sigma, St. Louis, MO）（主に、ＰＤＥＩＢ）、例えば当業者がＨＥＫまたはＳＦ９細胞において生成し得る、組換え全長ヒトＰＤＥ１ＡおよびＰＤＥ１Ｂ（それぞれ、ｒ－ｈＰＤＥ１Ａおよびｒ－ｈＰＤＥ１Ｂ）。ＰＤＥ１酵素は、５０％グリセロールで２.５Ｕ／ｍｌに再構成される。１単位の酵素は、３０℃にてｐＨ７.５で１分間当たり１.０μｍの３',５'－ｃＡＭＰを５'－ＡＭＰに加水分解する。酵素１部を反応バッファー（３０μＭ　$CaCl_2$、１０Ｕ／ｍｌのカルモジュリン（Ｓｉｇｍａ　Ｐ２２７７）、１０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ　ｐＨ７.２、１０ｍＭ　$MgCl_2$、０.１％ＢＳＡ、０.０５％NaN_3）１９９９部に添加して、最終濃度１.２５ｍＵ／ｍｌを得る。希釈した酵素溶液９９μｌを、１００％ＤＭＳＯに溶解した試験化合物１μｌを添加した平底９６ウェルポリスチレンプレートの各ウェル中に添加する。化合物を酵素と混合し、室温で１０分間プレインキュベートする。
【００８２】
ＦＬ－ＧＭＰ変換反応は、３８４ウェルマイクロタイタープレート中にて酵素および阻害剤の混合物４部を基質溶液（０.２２５μＭ）１部と合わせることによって開始される。該反応を暗所にて室温で１５分間インキュベートする。該３８４ウェルプレートの各ウェルに結合試薬（消泡剤の１：１８００希釈液を添加した結合バッファーによるＩＭＡＰビーズの１：４００希釈液）６０μＬを添加することにより、該反応を停止させる。該プレートを室温で１時間インキュベートしてＩＭＡＰ結合を完了まで進行させ、次いで、Ｅｎｖｉｓｉｏｎマルチモードマイクロプレートリーダー（PerkinElmer, Shelton, CT）に入れて蛍光偏光（ΔｍＰ）を測定する。
【００８３】
ΔｍＰの減少として測定されるＧＭＰ濃度の減少は、ＰＤＥ活性の阻害を示す。０.００３７ｎＭ～８０,０００ｎＭの範囲の８～１６種類の濃度の化合物の存在下で酵素活性を測定し、次いで、非線形回帰ソフトウェア（ＸＬＦｉｔ；IDBS, Cambridge, MA）を用いてIC_{50}値を推定することができる薬物濃度対ΔｍＰをプロットすることによって、IC_{50}値が決定される。
【００８４】
本発明の化合物を、ＰＤＥ１阻害活性について本明細書に記載されているかまたは本明細書に同様に記載されているアッセイで試験する。例えば、化合物２１４は、式：

【化３５】



で示される特異的ＰＤＥ１阻害剤として同定される。この化合物は、下記の表に示されるとおり、ＰＤＥ１に対してナノモル以下で効果を有し（上記のアッセイにおいてウシ脳ＰＤＥ１に対して０.０５８ｎＭのＩＣ$_{50}$）、他のＰＤＥファミリーよりも高い選択性を有する：

ＰＤＥ標的	ＩＣ50（nM）	ＰＤＥx/ＰＤＥ1比
ウシ脳 ＰＤＥ1	０.０５８	1
ｈＰＤＥ２Ａ	３６６１	６３１２１
ｈＰＤＥ３Ｂ	３１２０	５３７９３
ｈＰＤＥ４Ａ	１５８	２７２４
ｒ－ウシＰＤＥ５Ａ	６３２	１０８９７
ウシ網膜ＰＤＥ６	３２４	５５８６
ｈＰＤＥ７Ｂ	３５５	６１２１
ｈＰＤＥ８Ａ	３００１	５１７４１
ｈＰＤＥ９Ａ	１６５６９	２８５６７２
ｈＰＤＥ１０Ａ	１８２４	３１４４８
ｈＰＤＥ１１Ａ	１３１３	２２６３８

該化合物は、６３種類の受容体、酵素、およびイオンチャネルのパネルに対しても非常に選択的である。これらのデータ、および本明細書に記載される他のＰＤＥ１阻害剤のデータは、Li et al., J. Med. Chem. 2016: 59, 1149-1164に記載されている（その記載内容は、出典明示により本明細書の一部を構成する）。

【００８５】

実施例２

単球から活性化マクロファージへの移行の阻害およびＡＮＰとの相互作用

ＰＤＥ１は、ＧＭ－ＣＳＦによって媒介される炎症性単球から活性化マクロファージへの移行において誘導され、この移行は、ＰＤＥ１ノックダウンによって阻害され得る。Bender and Beavo, 2006 PNAS 103, 460-5。心房性ナトリウム利尿ペプチド（ＡＮＰ）は、細胞内グアニリルシクラーゼ活性を刺激してＧＴＰをｃＧＭＰへ変換するＡＮＰ触媒性受容体を活性化させることによりｃＧＭＰレベルを上昇させる。ＡＮＰは、マクロファージに対して抗炎症効果を有し、マクロファージ中の炎症メディエーターの分泌を減少させる。Kiemer, et al., Ann Rheum Dis. 2001 Nov; 60(Suppl 3): iii68-iii70。具体的には、ＡＮＰは、マクロファージにおける誘導型一酸化窒素合成酵素（ｉＮＯＳ）のリポ多糖（ＬＰＳ）誘発性発現を阻害し、ＮＦ－κＢの活性化を低下させ、ＴＮＦαおよびインターロイキン１β（ＩＬ１β）のマクロファージ放出を阻害するが、抗炎症性サイトカインＩＬ１０およびＩＬ１受容体アンタゴニスト（ＩＬ１ｒａ）の分泌を阻害しない。

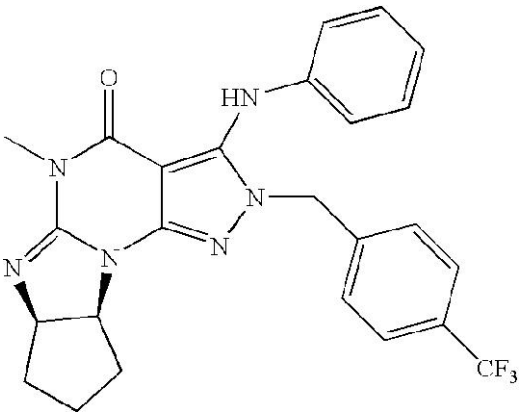
【００８６】

本発明者らは、ＡＮＰとＰＤＥ１阻害との間に相乗効果があることを示した。Bender, AT, and Beavo, JA, 2006, PNAS 103, 460-465に記載されるように、不死化ヒト前骨髄細胞株（ＡＴＣＣからのＨＬ６０）を増殖させ、分化させ、収穫する。ペニシリン、ストレプトマイシンおよび１０％ウシ胎仔血清を含むＨＥＰＥＳ緩衝ＲＰＭＩ１６４０培地中にて細胞を増殖させる。ＨＬ６０細胞をマクロファージ様細胞に分化させるために１００ｎＭのホルボール－１２－ミリステート－１３－アセテート（ＰＭＡ）を３日間使用する。分化後、時間０から細胞をＰＤＥ１阻害剤またはビヒクル（ＤＭＳＯ）と共にインキュベートする。４０分後に、５μＭイオノマイシン（カルシウムイオノフォア）を添加する。５０分後に、１００ｎＭ　ＡＮＰを添加する。６０分後に、細胞を収穫する。競合ＥＬＩＳＡ（Bender and Beavo, 2006）を用いて、総ｃＧＭＰレベルを測定する。

【００８７】

下記の構造式：

【化３６】



を有する、米国特許第８,２７３,７５０号の実施例２０として記載されている代表的なＰＤＥ１阻害剤である(６ａＲ,９ａＳ)－３－(フェニルアミノ)－５,６ａ,７,８,９,９ａ－ヘキサヒドロ－５－メチル－２－(４－(トリフルオロメチル)－ベンジル)－シクロペント[４,５]イミダゾ[１,２－ａ]ピラゾロ[４,３－ｅ]ピリミジン－４(２Ｈ)－オンを、この系におけるｃＧＭＰレベルに対するその効果について試験する。化合物２１４と同様に、この化合物は、ＰＤＥ１の強力かつ選択的な阻害剤である（Ｋｉ＝０.６８ｎＭ　上記のウシ脳ＰＤ

Ｅ１アッセイ）。１００ｎＭのＰＤＥ１阻害剤と組み合わせて１００ｎＭのＡＮＰで処理することによりＨＬ６０細胞において誘導されたｃＧＭＰレベルは、ＡＮＰ単独またはＰＤＥ１阻害剤単独のいずれかにより誘導されたものよりも大きい。加えて、ＡＮＰおよびＰＤＥ１阻害剤で共処理することにより達成されたｃＧＭＰレベルは、ＡＮＰ、および混合ＰＤＥ１／ＰＤＥ５阻害剤、ＳＣＨ５１８６６（５μＭで使用）で共処理することにより得られるものよりも非常に大きい。この実験では、細胞内カルシウムレベルを上昇させるため、およびＡＮＰにより誘導されたｃＧＭＰ上昇を打ち消すために、カルシウムイオノフォアイオノマイシン（５μＭで使用される）を使用する。イオノマイシンによるＰＤＥ１の活性化によって引き起こされるｃＧＭＰシグナルの減少は、ＰＤＥ１阻害剤と最適以下のレベルのＡＮＰとの組み合わせによって相乗的に防止される。イオノマイシンの添加は、ＡＮＰおよびＰＤＥ１阻害剤と組み合わせた場合には弱いｃＧＭＰ低下効果しかない。

【００８８】

実施例３

ミクログリア由来細胞に対するＰＤＥ１阻害剤の効果

神経炎症過程は、主に、ミクログリアによって調節される。ミクログリアは、マクロファージと若干類似している活性化状態を有し、ＩＦＮ－γまたはリポ多糖（ＬＰＳ）に応答して活性化されてＴＮＦ－、ＩＬ－１β、および活性酸素種／活性窒素種（ＲＯＳ／ＮＯＳ）などの炎症誘発性サイトカインを放出する。他の状況下では、それらは活性化されてＩＬ－１０のような抗炎症性サイトカインを放出することができ、組織修復に関与することができる。ミクログリアシグナル伝達のモデルとして不死化マウスミクログリア細胞株ＢＶ－２が用いられる。Stansley et al. Journal of Neuroinflammation 2012, 9: 115。

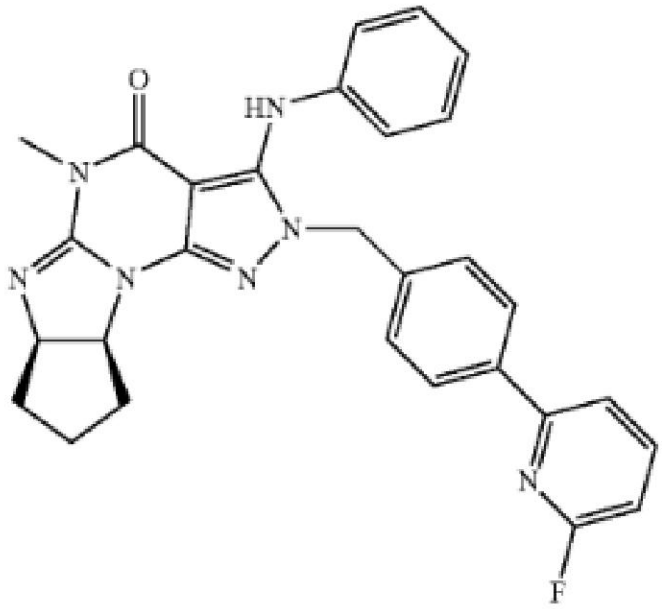
【００８９】

ＢＶ２細胞をリポ多糖（ＬＰＳ）で処理し、ＲＮＡ配列解析を用いてＰＤＥ発現の発現レベルを測定する。データは図１に示されている。「ＦＰＫＭ」とは、「マッピングされた読み取りデータ１００万当たりのエクソン１キロベース当たりのフラグメント読み取りデータ」（Fragment Reads per kilobase of exon per million reads mapped）を表す。炎症反応に関連するエンドトキシンであるＬＰＳによる処理後、ＰＤＥ１Ｂのレベルは、ＰＤＥファミリーの酵素の別のメンバーと比較した場合、相対的に大きなＲＮＡ発現増加を示す。ＰＤＥ１Ｂは、ＬＰＳ投与によりＲＮＡ発現の大きな増加を示すホスホジエステラーゼサブファミリーの１つである。

【００９０】

ＢＶ２細胞は、また、ロリプラム（特異的ＰＤＥ４阻害剤）の存在下または非存在下、および式：

【化３７】



で示される特異的ＰＤＥ１阻害剤である化合物２１４の存在下または非存在下で、ＬＰＳ刺激を用いたＲＮＡ配列解析によって評価され、ＬＰＳ単独の存在下に対してＬＰＳ＋ロリプラムの存在下で２０９個のｍＲＮＡ転写物が減少する；ＬＰＳ単独の存在下に対して化合物２１４＋ＬＰＳの存在下で１３８個の転写物が減少する。この二組の間の重複は、４８個の転写物である。同様に、ＬＰＳ単独の存在下に対してＬＰＳ＋ロリプラムの存在下で１５６個の転写物が上昇し；ＬＰＳ単独の存在下に対して化合物２１４＋ＬＰＳの存在下で１４９個の転写物が上昇する。この二組の間の重複は４５個の転写物である。

【００９１】

化合物２１４およびロリプラムの存在下および非存在下でのＬＰＳ刺激性ＢＶ２細胞の発現のさらなるＲＮＡ配列解析（実施例７を参照）は、２９３個の遺伝子が化合物２１４によって有意に影響されるがロリプラムによって影響されず、２５１個の遺伝子がロリプラムによって有意に影響されるが化合物２１４によって影響されず、１１４個の遺伝子だけが両方によって影響を受け、重複は約１７％にすぎなかったことを示している。

【００９２】

さらなる実験において、化合物２１４およびロリプラムの存在下および非存在下でのＬＰＳ刺激性ＢＶ２細胞における発現の分析は、各対（ＬＰＳ対ＬＰＳ＋ロリプラム、ＬＰＳ対ＬＰＳ＋ＩＴＩ－２１４）について差次的に発現された遺伝子が、最も重要な遺伝子（the most highly significant genes）の約半分を共有することを示している。例えば、該アッセイは、１２４０個の遺伝子が化合物２１４によって有意に影響されるがロリプラムによって影響されず、１４６３個の遺伝子がロリプラムによって有意に影響されるが化合物２１４によって影響されず、６８３個の遺伝子だけが両方によって影響を受け、重複は約半分にすぎなかったことを示している。

【００９３】

比較的小さい重複は、ＬＰＳ刺激に応答したこれらの細胞に対するＰＤＥ１阻害剤の効果がＰＤＥ４阻害剤の効果とは非常に異なることを示している。ＰＤＥ４阻害剤はしばしば抗炎症性であると考えられているが、この場合の２種類の阻害剤は、ほとんどが、完全に異なる遺伝子の発現に影響を及ぼしている。

【００９４】

さらにまた、遺伝子転写物のＲＮＡｓｅｑ定量化によって決定されるマウス脳ミクログリアに対するＢＶ２細胞におけるＰＤＥの発現レベルを比較する。表Ａに詳述されているとおり、ＰＤＥ１Ｂは、新しく単離されたマウスミクログリアにおいて２番目に豊富なＰ

ＤＥ転写物であり、ＢＶ２細胞において最も豊富なＰＤＥ転写物である。ＰＤＥ４Ｂ、ＰＤＥ４Ａ、ＰＤＥ７ＡおよびＰＤＥ８ａの発現もまた、両方の細胞型において実質的である（≧０.７　ＦＰＫＭ／ＲＰＫＭ）。ＢＶ２細胞においてＲＮＡ－Ｓｅｑによって検出されたいくつかのＰＤＥ酵素のうち、ＰＤＥ１は、ｃＡＭＰおよびｃＧＭＰの両方を加水分解する能力を有する唯一のものである。ＢＶ２細胞において比較的豊富なＰＤＥ１Ｂおよびｐｄｅ４イソ酵素は、これらが阻害剤研究のための適切なモデルであることを潜在的に示している（表Ａ）：

表A

X = FPKM または *RPKM* ≦ *0.1*

発現が保持されている

	Pde1b	Pde4b	Pde4a	Pde7a	Pde8a
ミクログリア	9.9	8.1	2.3	1.8	0.4
BV2 細胞	4.2	1.5	2.8	0.7	0.4

豊富、発現が消失している

	Pde3b	Pde2a	Pde8b	Pde9a
ミクログリア	33.6	9.6	2	0.5
BV2 細胞	X	0.2	X	X

その他、発現が消失している

	Pde4d	Pde1a	Pde10a	Pde7b
ミクログリア	0.4	0.3	0.3	0.3
BV2 細胞	X	X	X	X

ミクログリア中に存在しない

	Pde1c	Pde4c	Pde11a
ミクログリア	X	X	X
BV2 細胞	X	1.2	X

【００９５】

実施例４

ミクログリア由来細胞におけるＩＬ１β発現に対する効果

ＢＶ２細胞を（ｉ）ＬＰＳ（１０μｇ／ｍｌ）、（ｉｉ）化合物２１４（１０μｇ／ｍｌ）、または（ｉｉｉ）ＬＰＳおよび化合物２１４と共にインキュベートする。ＩＬ１βｍＲＮＡの定量的ＰＣＲを用いて、ＩＬ１βのレベルを測定する。ＩＬ１βは、炎症のマーカーであると考えられている。結果を図２に示す（ＲＱ：処理試料対対照試料における遺伝子発現の変化の相対的定量化；*** 対照に対してｐ＜０.０１、√ ＬＰＳ単独に対してｐ＜０.０１；ニューマン＝コイルス事後検定（Newman-Keuls post-hoc test）をともなうＡＮＯＶＡ）。かくして、本発明のＰＤＥ１阻害剤の投与は、ミクログリア由来細胞におけるＩＬ１βの発現のＬＰＳ誘導性増加を有意に鈍化する。

【００９６】

実施例５

インビボで海馬におけるＩＬ１β発現に対する効果

マウスに（ｉ）ＬＰＳ（２ｍｇ／ｋｇ、皮下）、（ｉｉ）化合物２１４（１０ｍｇ／ｋｇ、腹腔内）または（ｉｉｉ）ＬＰＳおよび化合物２１４を注射する。注射の６時間後に、ＩＬ１βｍＲＮＡの定量的ＰＣＲにより、海馬におけるＩＬ１βのレベルを測定する。

ＩＬ１βは、炎症のマーカーであると考えられている。データは図３に示されている（*** ＬＰＳ単独に対してｐ＜０.０１、ニューマン＝コイルス事後検定（Newman-Keuls post-hoc test）をともなうＡＮＯＶＡ）。インビボでの効果は、ＢＶ２細胞において見られた効果と同様である：本発明のＰＤＥ１阻害剤の投与は、脳におけるＩＬ１βの発現のＬＰＳ誘導性増加を有意に鈍化する。

【００９７】

実施例６　－　ＢＶ２細胞における神経炎症性遺伝子発現に対する効果

１０μＭの本発明のＰＤＥ１阻害剤（化合物２１４）の投与は、ＩＬ１βに関して実施例４に記載されるように、定量的ＰＣＲによって測定されるように、ＢＶ２細胞における炎症性サイトカインＩＬ１β、ＴＮＦαおよびＣｃｌ２の発現のＬＰＳ誘導性増加を有意に減少させる。ＰＤＥ４阻害剤であるロリプラムは、ＴＮＦαおよびＣｃｌ２の発現を減少させる一方でＩＬ１β発現を増加させるという異なるプロファイルを示す。データは図４ａに示されている。

【００９８】

別の実験において、本発明のＰＤＥ１阻害剤（化合物２１４）の投与は、ＢＶ２細胞における炎症誘発性マーカーのＬＰＳ誘導性変化を大幅に減少させるかまたは鈍化させる（図４ｂ）。ＢＶ２細胞は、化合物、ＩＴＩ－２１４またはロリプラム、ＰＤＥ４阻害剤で前処理し、次いで、５０ｎｇ／ｍｌのＬＰＳで４時間刺激する。ＴＮＦ、ＩＬ１β、Ｃｃｌ２およびＩＬ６の発現レベルを測定する。正規化されたｍＲＮＡレベルは、ビヒクルからの変化（ΔΔＣｔ）として示され、一元ＡＮＯＶＡを用いて比較される。ラインは平均を表す。* ビヒクルと有意に異なる。# ＬＰＳと有意に異なる。* ｐ＜０.０５、** ｐ＜０.０１、*** ｐ＜０.００１、**** ｐ＜０.０００１。インビボで研究された４つのサイトカインのうちの３つであるＴＮＦ、ＩＬ１βおよびＣｃｌ２のｍＲＮＡ転写物は、５０ｎｇ／ｍｌのＬＰＳで処理されたＢＶ２細胞において上昇した。ＴＮＦおよびＣｃｌ２に対するｍＲＮＡシグナルは、ＩＴＩ－２１４（１０μＭ）での処理によって有意に減少し、ＩＬ１β　ｍＲＮＡシグナルは下降の傾向にあった。

【００９９】

実施例７　－　ＢＶ２細胞からのＬＰＳ誘導性ＴＮＦα放出の阻害

ＰＤＥ１阻害は、ＬＰＳ誘導性ＴＮＦα遺伝子発現およびＢＶ２細胞からの放出を減少させる。

【０１００】

ＴＮＦα放出：　ＴＮＦαレベルをＢＶ２条件培地中で測定し、細胞タンパク質レベルに対して正規化する。ＢＶ２細胞からのＬＰＳ誘導ＴＮＦα放出の阻害を図５に示す。左側のパネルは、１０μＭの化合物２１４および５０ｎｇ／ｍｌのＬＰＳで処理したＢＶ２細胞を示す（一元ＡＮＯＶＡ、* ｐ＜０.０５、ビヒクル　ｎ＝１６、ＬＰＳ　ｎ＝３１、ＬＰＳ＋２１４　ｎ＝１４）。右側のパネルは、化合物２１４に応答したＬＰＳ誘導性ＴＮＦα放出（５０ｎｇ／ｍｌのＬＰＳ刺激）の用量依存性阻害を示す（１実験当たりの総ＬＰＳ応答の阻害％として測定される）。

【０１０１】

ＴＮＦα遺伝子発現：　図６は、培地中で測定したＴＮＦα放出のこの用量依存的減少がＴＮＦα　ｍＲＮＡ発現の減少に対応することを示す。

【０１０２】

実施例８　－

ＢＶ２細胞におけるおよびインビボでのマウス線条体に対する神経炎症性遺伝子発現に対する効果

選択的ＰＤＥ１阻害剤（化合物２１４）の効果は、ＥＬＩＳＡを用いてサイトカイン放出の変化を、また、ＲＴ－ｑＰＣＲおよびＲＮＡ－Ｓｅｑを用いて遺伝子発現の変化を測定することにより、ＬＰＳ刺激性ＢＶ２細胞において試験される。（実験Ａ（ｎ＝４）：（１）ビヒクル；（２）１０μＭの化合物２１４；（３）５０ｎｇ／ｍｌのＬＰＳ；（４）５０ｎｇ／ｍｌのＬＰＳ＋１０μＭの化合物２１４；実験Ｂ（ｎ＝２）：（１）５０ｎ

ｇ／ｍｌのＬＰＳ；（２）５０ｎｇ／ｍｌのＬＰＳ＋１０μＭの化合物２１４；（３）５０ｎｇ／ｍｌのＬＰＳ＋１０μＭのロリプラム（公知の強力なＰＤＥ４阻害剤））。最初に試験化合物を添加し、１時間後にＬＰＳを添加し、実験開始から５時間後に細胞および／または培地を収集する。

【０１０３】

ＰＤＥ１阻害は、ＢＶ２細胞におけるＴＮＦα放出のＬＰＳ誘導性増加を防止する。同様に、ＴＮＦα、ＩＬ－１βおよびＣｃｌ２　ｍＲＮＡ発現のＬＰＳ誘導性増加は、ＰＤＥ１阻害の結果としてＢＶ２細胞およびマウスの両方において＞５０％減少する（ｐ＜０.０１）。休止ミクログリアおよびＬＰＳ活性化ミクログリアに対するＰＤＥ１阻害の作用をよりよく理解するために、本発明者らは、ＲＮＡ－Ｓｅｑを用いて転写制御を試験する。転写物発現がＰＤＥ１阻害により有意に変化する遺伝子のサブセットが同定される。遺伝子オントロジーソフトウェア（ＡｍｉＧＯ　２）を用いて、これらの遺伝子は、細胞遊走および血管外遊走経路ならびに炎症経路において有意に（ｐ＜０.０５）濃縮されていることが分かる。ＬＰＳによって誘導された遺伝子のうち、サブセットは、ＰＤＥ１阻害によって減弱され、それらはすべて、炎症経路と有意に（ｐ＜０.０５）関連している。ＰＤＥ４阻害はＬＰＳ誘導性遺伝子の異なるサブセットを減弱し、これは本発明者らの標的の独特の特性を示している（ＰＤＥ１阻害と約１７％の重複）。

【０１０４】

細胞：　２％または１０％熱不活性化ＦＢＳ中で増殖させたＢＶ２マウスミクログリア細胞株（ICLC, Italy）

【０１０５】

ＴＮＦαＥＬＩＳＡ：　Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒマウス ＴＮＦα比色サンドイッチＥＬＩＳＡキット。標準曲線からの補間値。用量応答は、４パラメーターロジスティック曲線に適合する。

【０１０６】

ＲＴｑＰＣＲ：　ＲＮｅａｓｙＫｉｔ(Qiagen）を用いて精製したＢＶ２細胞由来のＲＮＡ、およびＴＲＩｚｏｌ（Ambion）を用いたマウス組織由来のＲＮＡ。Thermo FisherからのＴａｑＭａｎプライマー－プローブアッセイ。全ての条件についてのｍＲＮＡレベルは、ＧＡＰＤＨおよびビヒクル対照（ΔΔＣｔ）に対して正規化される。多重比較のためのボンフェローニ事後検定（Bonferroni post-test for multiple comparisons）とともに一元ＡＮＯＶＡを用いてデータを統計的に解析する。

【０１０７】

本発明者らの結果は、ＰＤＥ１の阻害がミクログリアにおける活性を調節し、炎症性遺伝子の発現を減少させることを示しており、毒性神経炎症を治療するためにＰＤＥ１阻害剤を使用する論理的根拠を提供する。

【０１０８】

ＲＮＡＳｅｑ：　ＢＶ２細胞を急速冷凍し、ＲＮＡを単離し、ポリＡ選択を用いてライブラリーを作成し、高出力モードのＩｌｌｕｍｉｎａ　ＨｉＳｅｑ　２５００上で（Ｖ４化学を用いて）１×５０ｂｐシングルリードシーケンシングを行う。ＣＬＣ　Ｇｅｎｏｍｉｃｓ　Ｓｅｒｖｅｒを使用して遺伝子を参照ゲノム（ＧＲＣｍ３８）にマッピングする。１試料当たりの読み取り数は、平均約１７００万である。差次的遺伝子発現解析は、ＤＥＳｅｑ２ソフトウェア（Bioconductor.org）を用いて行われる。差次的に発現された遺伝子（ｐ＜０.０１、ワルド検定（Waldtest））は、ｌｏｇ２（フォールドチェンジ（fold change））として報告される。

【０１０９】

下記の表は、ＰＤＥ１阻害剤（化合物２１４）またはＰＤＥ４阻害剤（ロリプラム）の存在下または非存在下でのＬＰＳ投与に対するＢＶ２細胞およびマウス線条体対象体の両方における神経炎症バイオマーカー発現の初期結果のサマリーを示す。結果は、Ｑ－ＰＣＲを用いた試料の評価に基づいている。

バイオマーカー	BV2＋LPS	PDE1阻害剤	ロリプラム	マウス線条体＋LPS	PDE1阻害剤	ロリプラム
腫瘍壊死因子	UP	Down	Down	UP	NC	Down
インターロイキン１β	Up	Down	UP UP	UP	NC	UP-UP
インターロイキン６	NC	NC	NC	NC	NC	UP-UP
ケモカイン(Ｃ－Ｃ)モチーフリガンド２	UP	Down	Down	UP	Down	Down
白血病抑制因子	NC	NC	UP	NC	NC	NC
オンコスタチンＭ	NC	UP	UP	UP	Down	Down

本発明のＰＤＥ１阻害剤の投与は、ＬＰＳだけで処理した試料と比較したバイオマーカーＩＬ１β、ＴＮＦαおよびＣｃｌ２の発現の減少または変化無しと相関する。興味深いことに、ＰＤＥ１阻害剤の抗炎症プロファイルは、ＰＤＥ４阻害剤の抗炎症プロファイルと全く異なる。

【０１１０】

マウス線条体における炎症性遺伝子発現に対するＰＤＥ１阻害の効果を測定するさらなる実験からのデータは図７に示されている。成体マウス（少なくとも２か月齢、雄性Ｃ５７ＢＬ／６）を化合物２１４（１０ｍｇ／ｋｇ（腹腔内））およびＬＰＳ（５００μｇ／ｋｇ（皮下））で処理し、２時間後に　殺する。線条体組織を単離し、急速冷凍し、ＲＮＡを抽出する。ＲＴ－ｑＰＣＲからの測定結果をｌｏｇ２フォールドチェンジ（fold change）（２ΔΔＣｔ）として示す。ｎ＝４　＊　ｐ＜０.０５、＊＊　ｐ＜０.０１、＊＊＊　ｐ＜０.００１、＊＊＊＊　ｐ＜０.０００１。

【０１１１】

ＰＤＥ１阻害剤が炎症誘発性サイトカインＴＮＦα、Ｃｃｌ２、ＩＬ－１βおよびＩＬ－６のＬＰＳ刺激を阻害することを確認することに加えて、ＰＤＥ１阻害剤が抗炎症性サイトカインＩＬ－１０の発現を有意に増強することが分かる。

【０１１２】

ＢＶ２細胞におけるおよびインビボでのマウス線条体に対する神経炎症性遺伝子発現に対するさらなる効果

マウス線条体における炎症性遺伝子発現に対するＰＤＥ１阻害の効果を測定するさらに別の実験からのデータは図８に示されている。成体マウスをビヒクル（白色の棒）、５００μｇ／ｋｇのＬＰＳ（皮下）（灰色の棒）、または１０ｍｇ／ｋｇ（化合物２１４）腹腔内および５００μｇ／ｋｇのＬＰＳ（皮下）（黒色の棒）で２時間処理する（ｎ＝４）。線条体組織をＴＮＦ、ＩＬ１β、Ｃｃｌ２およびＩＬ６のｍＲＮＡレベルについて分析する。発現レベルをビヒクルからのＱ－ＰＣＲシグナルの変化（ΔΔＣｔ）として示し、ＡＮＯＶＡを用いて比較する。＊　ｐ＜０.０５、＊＊　ｐ＜０.０１、＊＊＊　ｐ＜０.００１。

【０１１３】

本出願人は、定量的ＰＣＲを用いて４つの一般的な炎症マーカー（ＴＮＦ、ＩＬ１β、Ｃｃｌ２およびＩＬ６）のｍＲＮＡレベルを測定する（図８）。５００μｇ／ｋｇのＬＰＳ（皮下）で２時間処理した成体マウスにおいて、４つのマーカーすべてのｍＲＮＡ発現レベルは、線条体からの単離組織試料において測定されるように有意に増加する（図８）。腹腔内送達される１０ｍｇ／ｋｇ（化合物２１４）の用量はＴＮＦおよびＣｃｌ２の発現を減弱させる。この実験において、ＩＬ１βおよびＩＬ６のレベルも同様にレベルを低下させる傾向にあるが、有意に達しない。

【０１１４】

ＢＶ２細胞におけるＰＤＥ１阻害に関連した生物学的過程

実験１

下記の表（表１）は、実験Ａからの化合物２１４比較および実験Ｂからのロリプラム比較において差次的に発現された遺伝子を遺伝子機能のデータベースに対して分析することにより、ＢＶ２細胞におけるＰＤＥ１阻害に関連した生物学的過程を協調している。遺伝

子オントロジー解析は、ＡｍｉＧＯ２ソフトウェアバージョン：２．４．２４を実行しているＰＡＮＴＨＥＲ．ＰＡＮＴＨＥＲ　Ｏｖｅｒｒｅｐｒｅｓｅｎｔａｔｉｏｎ　Ｔｅｓｔ（リリース２０１６０７１５）を用いて生成される。２０１６－１０－２７リリースのＧＯオントロジーデータベース。参照リスト＝ハツカネズミ（Mus musculus）（データベース内の全ての遺伝子）。ボンフェローニ補正（Bonferroni Correction）。示される生物学的過程は、ヒエラルキービューにおけるヘッダー（Headers in Hierarchy View）である（ｐ＜０．０５）。

表１

ビヒクルと対比した化合物214による増加

生物学的過程	経路ＩＤ	Ｐ値
炎症反応の正の調節	GO:0050729	3.83E-05
白血球遊走	GO:0050900	3.15E-04
炎症反応に関与する白血球遊走	GO:0002523	1.09E-03
インターロイキン８産生の正の調節	GO:0032757	3.00E-03
細胞血管外遊走の調節	GO:0002691	5.90E-03
白血球走化性	GO:0030595	8.30E-03
細胞血管外遊走の正の調節	GO:0002693	3.89E-02

ビヒクルと対比した化合物214による減少

生物学的過程	経路ＩＤ	Ｐ値
リポ多糖に対する細胞応答	GO:0071222	2.15E-02
リンパ球活性化の調節	GO:0051249	3.29E-02
白血球分化	GO:0002521	3.45E-02
免疫グロブリンスーパーファミリードメインから構築された免疫受容体の体細胞組換えに基づく適応免疫応答の調節	GO:0002822	3.58E-02

ビヒクルと対比した化合物214による増加　－　ミクログリアにおいて高度に発現する遺伝子のサブセット
（ＦＰＫＭ＞10、脳ＲＮＡ－Ｓｅｑデータベース）

生物学的過程	経路ＩＤ	Ｐ値
炎症反応の正の調節	GO:0050729	7.50E-04
白血球走化性	GO:0030595	2.63E-02
細胞－細胞接着の正の調節	GO:0022409	2.88E-02
炎症反応	GO:0006954	1.36E-02
細胞の金属イオンホメオスタシス	GO:0006875	2.42E-02
アポトーシス過程の正の調節	GO:0043065	1.29E-02

ビヒクルと対比したＬＰＳによる増加、ＬＰＳと対比したＬＰＳ＋ＩＴＩ－２１４による減少

生物学的過程	経路ＩＤ	Ｐ値
免疫系過程の正の調節	GO:0002684	3.98E-08
リポ多糖に対する細胞応答	GO:0071222	4.69E-05
炎症反応	GO:0006954	4.87E-05
サイトカインに対する応答	GO:0034097	3.68E-03
炎症反応の正の調節	GO:0050729	1.08E-02
サイトカイン生合成過程の正の調節	GO:0042108	1.59E-02
細胞死の正の調節	GO:0010942	1.94E-02
腫瘍壊死因子産生の正の調節	GO:0032760	2.45E-02

ビヒクルと対比したＬＰＳによる増加、ＬＰＳと対比したＬＰＳ＋ロリプラムによる減少

生物学的過程	経路ＩＤ	Ｐ値
サイトカイン刺激に対する細胞応答	GO:0071345	4.31E-03
マクロファージ走化性	GO:0048246	6.39E-03
白血球遊走	GO:0050900	2.18E-02
ＧＴＰアーゼ活性の正の調節	GO:0043547	3.92E-02

ビヒクルと対比したＬＰＳによる増加、ＬＰＳと対比したＬＰＳ＋ロリプラムによる増加

生物学的過程	経路ＩＤ	Ｐ値
細胞による分泌の負の調節	GO:1903531	2.73E-02

実験２

さらなる実験において、ＡｍｉＧＯを用いて、下記の表（表２）は、ＢＶ２細胞におけるＲＮＡｓｅｑ実験においてＬＰＳおよびＩＴＩ－２１４によって影響を受ける調節経路を解析する。全体として、一次過程タイプは、ＬＰＳによって変化し、ＩＴＩ－２１４を含むことにより減弱され得、炎症、サイトカイン発現、およびＬＰＳに対する細胞応答に関連すると考えられる（表２）。一般に、ビヒクルと比較してＩＴＩ－２１４処理に関連して差次的に発現した遺伝子は、走化性および遊走に関連する過程と関連すると考えられる。ＬＰＳおよびＩＴＩ－２１４の組み合わせにのみ反応する遺伝子は、ＤＮＡ複製、有糸分裂周期およびＤＮＡ修復に関連した生物学的過程の強化を示すと考えられる。

表２

ビヒクル対化合物２１４

生物学的過程	経路ＩＤ	フォールドエンリッチメント (Fold Enrichment)	p値
腫瘍壊死因子生合成過程の正の調節	GO:0042535	15.17	3.15E-02
トール様応答シグナル伝達経路	GO:0002224	7.53	3.40E-03
ＤＮＡ依存性ＤＮＡ複製	GO:0006261	5.94	8.05E-05
好中球走化性	GO:0030593	5.83	3.88E-02
リポ多糖に対する細胞応答	GO:0071222	5.82	3.14E-07
骨石灰化の調節	GO:0030500	5.48	2.71E-02
炎症反応の正の調節	GO:0050729	5.43	2.97E-04
白血球遊走の正の調節	GO:0002687	4.27	8.12E-03
二本鎖切断修復	GO:0006302	3.78	4.03E-02
活性酸素種代謝過程の調節	GO:2000377	3.76	6.50E-03
炎症反応	GO:0006954	3.5	1.69E-08
白血球細胞－細胞接着の正の調節	GO:1903039	3.45	4.07E-02
金属イオンに対する応答	GO:0010038	3.2	2.46E-02
白血球分化	GO:0002521	3.04	4.63E-04
ＭＡＰキナーゼ活性の調節	GO:0043405	2.91	2.71E-02
有機窒素化合物に対する細胞応答	GO:0071417	2.82	5.72E-03
	GO:1903706	2.79	6.79E-03
リンパ球活性化	GO:0046649	2.79	2.00E-03
免疫系過程の負の調節	GO:0002683	2.71	3.69E-03
細胞周期の負の調節	GO:0045786	2.64	2.13E-02
細胞活性化の正の調節	GO:0050867	2.5	2.84E-02
アポトーシス過程の正の調節	GO:0043065	2.48	5.73E-04
カルボン酸代謝過程	GO:0019752	2.41	4.72E-05
アポトーシス過程	GO:0006915	2.34	5.79E-05
有機リン酸代謝過程	GO:0019637	2.2	4.38E-03
非生物性刺激に対する応答	GO:0009628	2.08	4.63E-03
細胞増殖の正の調節	GO:0008284	2.06	4.99E-03
細胞脂質代謝過程	GO:0044255	2.04	4.09E-02
リン酸含有化合物代謝過程	GO:0006796	2.04	9.60E-08
触媒活性の正の調節	GO:0043085	2	3.14E-03
免疫応答	GO:0006955	2	1.07E-03

ＬＰＳ対ＬＰＳ＋化合物２１４

生物学的過程	経路ＩＤ	フォールドエンリッチメント (Fold Enrichment)	p値
Ｔ細胞同時刺激	GO:0031295	10.39	1.28E-02
トール様受容体シグナル伝達経路	GO:0002224	9.52	2.99E-07
白血球媒介性細胞傷害	GO:0001909	7.93	7.24E-03
サイトカイン生合成過程の正の調節	GO:0042108	6.91	8.67E-05
インターロイキン２産生の調節	GO:0032663	6.47	5.06E-03
リポ多糖に対する細胞応答	GO:0071222	5.49	1.53E-07
炎症反応の正の調節	GO:0050729	5.27	7.64E-05
腫瘍壊死因子産生の正の調節	GO:0032760	5.26	6.81E-03
顆粒球遊走	GO:0097530	4.95	3.20E-02
白血球走化性	GO:0030595	4.68	4.81E-04
骨髄白血球分化の調節	GO:0002761	4.6	6.24E-04
カルシウムイオンに対する応答	GO:0051592	4.28	3.35E-02
白血球遊走の正の調節	GO:0002687	4.14	2.99E-03
リンパ球増殖の正の調節	GO:0050671	3.87	1.58E-02
Ｂ細胞活性化	GO:0042113	3.82	2.71E-03
Ｔ細胞増殖の調節	GO:0042129	3.75	3.66E-03
免疫グロブリンスーパーファミリードメインから構築された免疫受容体の体細胞組換えに基づく適応免疫応答の調節	GO:0002822	3.7	2.88E-02
炎症反応	GO:0006954	3.67	1.65E-11
グリセロ脂質代謝過程	GO:0046486	3.3	3.75E-04
Ｉ－κＢキナーゼ／ＮＦ－κＢシグナル伝達の調節	GO:0043122	3.28	9.84E-03
ウイルスに対する応答	GO:0009615	3.24	2.08E-02
ペプチジル－チロシンリン酸化の調節	GO:0050730	3.01	1.57E-02
血管新生の調節	GO:0045765	2.94	3.71E-02
サイトカイン媒介シグナル伝達経路	GO:0019221	2.91	1.80E-02
細胞接着の負の調節	GO:0007162	2.89	3.19E-02
リン脂質代謝過程	GO:0006644	2.79	3.78E-02
ＭＡＰキナーゼ活性の調節	GO:0043405	2.73	3.61E-02
アポトーシス過程の正の調節	GO:0043065	2.69	7.61E-07
免疫系過程の負の調節	GO:0002683	2.64	1.47E-03
白血球分化	GO:0002521	2.56	2.74E-02
免疫エフェクター過程	GO:0002252	2.55	9.04E-05
タンパク質リン酸化の負の調節	GO:0001933	2.42	3.00E-02
自然免疫応答	GO:0045087	2.36	3.26E-04
細胞内シグナル伝達の負の調節	GO:1902532	2.31	1.29E-02
他の生物に対する防御反応	GO:0098542	2.21	2.19E-02
脈管構造発生	GO:0001944	2.19	4.69E-02
トランスフェラーゼ活性の正の調節	GO:0051347	2.18	4.90E-02
異化過程の調節	GO:0009894	2.07	9.69E-03
細胞内シグナル伝達	GO:0035556	2.06	8.20E-07
アポトーシス過程	GO:0006915	2.04	5.92E-03

ビヒクル対ＬＰＳ＋化合物２１４（ビヒクル対ＬＰＳまたはビヒクル対化合物２１４にも見られる示差的に発現した遺伝子を除く）

生物学的過程	経路ＩＤ	フォールドエンリッチメント (Fold Enrichment)	ｐ値
プソイドプリジン合成	GO:0001522	10.45	1.23E-02
ピリミジンヌクレオチド代謝過程	GO:0006220	7.3	4.98E-02
ＤＮＡ依存性ＤＮＡ複製	GO:0006261	5	7.52E-05
有糸分裂姉妹染色体分離	GO:0000070	4.05	3.36E-02
ｔＲＮＡ代謝過程	GO:0006399	3.57	1.38E-03
ＤＮＡ修復	GO:0006281	2.52	5.78E-04
有機リン酸生合成過程	GO:0090407	2.51	1.05E-02
染色体構築の調節	GO:0033044	2.45	4.74E-02
細胞周期過程の調節	GO:0010564	2.35	3.32E-04
有糸分裂細胞周期の調節	GO:0007346	2.33	1.00E-03
細胞分裂	GO:0051301	2.23	1.01E-02

【０１１５】

選択された遺伝子のＩＴＩ－２１４に対する応答

さらなる実験において、ＲＴ－ｑＰＣＲによるさらなる分析のために一群の遺伝子を選択する。比較のために、補体経路における遺伝子を含む、ミクログリア細胞および星状細胞活性化における科学文献に関与している遺伝子を分析する。

【０１１６】

転写応答実験から導き出すことができるこの選択パネルにおいて、一般的に言えば、遺伝子の大部分は、３つの一般的なカテゴリーに分類される：ＬＰＳによって強く誘導され、ＰＤＥ１の阻害によって減弱または逆転されるもの、主に化合物２１４に対して応答するもの、およびＬＰＳによって強く誘導され、化合物２１４に対して弱い応答を示すもの。これらのパターンを図９の平行座標グラフに表示する。

【０１１７】

一の実験において、図１０は、様々な用量のＩＴＩ－２１４でＢＶ２細胞を処理した後の標的遺伝子発現の定量変化を示す。注目すべき所見は、ＩＴＩ－２１４によるＬＰＳに対する転写応答の調節が用量依存的であるということである（図１０ａ）。図１０ａは、５０ｎｇ／ｍｌのＬＰＳおよび示された用量のＩＴＩ－２１４を用いたＢＶ２細胞における各遺伝子の発現レベルの変化を示す。ＬＰＳ刺激の非存在下でのＩＴＩ－２１４の用量依存性効果を図１０ｂに示す。全ての試料値を、３つの参照遺伝子の平均およびビヒクル対照（ΔΔＣｔ）に対して正規化する。エラーバーは、平均値±ＳＥＭ（ｎ＝４）を表す。左から右へ、サイトカインの分類について、バーは、Ｘ軸上に示される各特定の遺伝子について、ＬＰＳ、０.１μＭの２１４＋ＬＰＳ、０.４μＭの２１４＋ＬＰＳ、１.１μＭの２１４＋ＬＰＳ、３.３μＭの２１４＋ＬＰＳ、１０μＭの２１４＋ＬＰＳで処理された試料を示す。ＬＰＳと１０μＭのＩＴＩ－２１４＋ＬＰＳとの間（Ａ）およびビヒクルと１０μＭのＩＴＩ－２１４との間（Ｂ）の有意な変化は、Ｘ軸遺伝子名上にマークされており、一元ＡＮＯＶＡを用いて計算される。＊ ｐ＜０.０５、＊＊ ｐ＜０.０１、＊＊＊ ｐ＜０.００１、＊＊＊＊ ｐ＜０.０００１。

【０１１８】

ＬＰＳのＩＴＩ－２１４依存性阻害に対するｃＡＭＰおよびｃＧＭＰの効果；アクチベーター

本発明のＰＤＥ１阻害剤（化合物２１４）のｃＧＭＰ依存性活性を研究するために、心房性ナトリウム利尿ペプチド（ＡＮＰ）による粒子状グアニリルシクラーゼ活性または一酸化窒素供与体ＤＥＡＮＯによる可溶性グアニリルシクラーゼ活性を刺激することができる。一の特定の実験において、ＢＶ２細胞を、１０μＭフォルスコリン（ＦＳＫ）で処理

してアデニリルシクラーゼを活性化するか、５μＭのＤＥＡＮＯで処理して可溶性グアニリルシクラーゼを活性化するか、または１００ｎＭ心房性ナトリウム利尿ペプチド（ＡＮＰ）で処理して粒子状グアニリルシクラーゼを活性化する。単独では、これらのアクチベーターは、選択された遺伝子のＬＰＳ誘導に対してほとんどまたは全く影響を及ぼさないと考えられる。フォルスコリンをＩＴＩ－２１４と組み合わせると、ＩＴＩ－２１４阻害のいくつかの効果を増大させることができる。例えば、以下のＩＴＩ－２１４応答性転写物は、付随するフォルスコリンによってさらに下方または上方調節される：ケモカイン受容体Ｃｘ３ｃｒ１、サイトカインＣｓｆ２およびＴＮＦ、ケモカインＣｃｌ４、キナーゼＭＡＰＫＡＰＫ２、ホスファターゼＰｔｐＮ６、ケモカイン受容体Ｃｃｒ１。サイトカインＬＩＦは、ＬＰＳによる発現の増加を示し、ＩＴＩ－２１４によってさらに増加する。しかしながら、フォルスコリンを添加すると、ＬＩＦは、ＬＰＳレベルの発現に戻る。データは図１１ａに示されている。

【０１１９】

ＩＴＩ－２１４とともにＤＥＡＮＯ処理に対する応答は、フォルスコリンおよびＩＴＩ－２１４で見られる応答とよく一致しており、ｃＧＭＰまたはｃＡＭＰシグナル伝達のＩＴＩ－２１４増強がＬＰＳ誘導を逆転させることができることを示している。ＡＮＰおよびＩＴＩ－２１４処理により同等の反応があるとは考えられない。これは、おそらく、ｃＧＭＰの異なるプール（細胞質型対膜結合型）がＰＤＥ１の阻害に対するある種の転写応答を支配することを示している。以下のサイトカイン：Ｃｘ３ｃｒ１、Ｃｓｆ２、ＰｔｐＮ６、ならびにＣｃｒ１およびＬＩＦについて、ＩＴＩ－２１４にＤＥＡＮＯ、ＦＳＫまたはＡＮＰを添加しても同等の応答があると考えられる。Ｃｃｌ４、ＴＮＦおよびＭＡＰＫＡＰＫ２は、ＰＤＥ１阻害剤へのＡＮＰの添加に対して弱い応答を示すかまたは全く応答を示さない。最後に、Ｃ型レクチンＣＤ７２および転写因子Ｄｄｉｔ３についてのＩＴＩ－２１４に対するｍＲＮＡ応答は、ＡＮＰによって選択的に増強される。データは図１１ａに示されている。

【０１２０】

パネル中の２つの転写物、Ｃｘ３ｃｒ１およびＴｇｍ２は、ＩＴＩ－２１４処理により最も劇的な変化を示す。ＬＰＳによるＣｘ３ｃｒ１の誘導は、ＬＰＳの非存在下でのこのマーカーの基礎発現と同様にＩＴＩ－２１４処理によって有意に減少した。

【０１２１】

ＬＰＳのＩＴＩ－２１４依存性阻害に対するｃＡＭＰおよびｃＧＭＰの効果；阻害剤

ＬＰＳ刺激、ＰＤＥ１のＩＴＩ－２１４阻害、およびＰＫＡ阻害剤ｃＡＭＰＳ－Ｒｐ（１００μＭ）またはＰＫＧ阻害剤－８－Ｂｒ－ＰＥＴ－ｃＧＭＰＳ（１００μＭ）を組み合わせることによる、ＩＴＩ－２１４応答に対する各環状ヌクレオチド（ｃＡＭＰまたはｃＧＭＰ）の影響。環状ヌクレオチド依存性シグナル伝達分子に結合すると、これらの類似体は、活性化をもたらさず、真正の環状ヌクレオチドによる活性化を防止する。ＩＴＩ－２１４の影響を中程度に軽減することはこれらの阻害剤の標準である（図１１ｂ）。ＬＰＳ処理単独と比較してそれらのオーダーである１０μＭのＩＴＩ－２１４へのＰＫＡまたはＰＫＧ阻害剤の添加後の遺伝子発現レベルが、３.３μＭのＩＴＩ－２１４と同等のレベルまで低下したことに留意すべきである。データは図１１ｂに示されている。

【０１２２】

実施例９　－　ストレス誘発性炎症に対する効果

この実験は、野生型マウス対ＰＤＥ１Ｂ条件付ノックアウトマウスにおける脳サイトカイン／ケモカインプロファイルに対する慢性ストレスの影響を比較する。野生型マウスおよびＰＤＥ１Ｂノックアウトマウスのこのモデルにおけるストレス誘発性サイトカイン変化に対する本発明のＰＤＥ１阻害剤（化合物２１４）の効果を評価することにより、ＰＤＥ１阻害剤の効果がＰＤＥ１Ｂに特異的であることを確認することができる。

【０１２３】

ＰＤＥ１Ｂ条件付ノックアウトマウスは、Siuciak JA, et al. “Behavioral and neurochemical characterization of mice deficient in the phosphodiesterase-1B (PD

E1B) enzyme.” Neuropharmacology. 2007 Jul; 53(1):113-24に記載されている。ＣＵＳ、および慢性ストレスの他のモデルについてのプロトコールは、Monteiro, et al., “An Efficient Chronic Unpredictable Stress Protocol to Induce Stress-Related Responses in C57BL/6 Mice,” Front Psychiatry. 2015; 6: 6 および Mann et al., “Chronic social defeat, but not restrain stress, alters bladder function in mice” Physiol. Behav. 2015; Oct 15; 150: 83-92に記載されている。

【０１２４】

一般に、野生型（対照）マウスおよびＰＤＥ１Ｂ条件付ノックアウトマウスは、必要に応じて、上記のMann et al (2015)によって記載されているように浅水モデルにおける拘束ストレス（restraint stress in shallow water model）（ＲＳＳＷ）を用いて慢性ストレスに曝される。ＲＳＳＷ（２１日間）について、マウスをビヒクルまたは化合物２１４（１０ｍｇ／ｋｇ、腹腔内または経口）のいずれかで毎日処理し、次いで、有孔円錐管に入れて足を水中に４時間浸し、次いで、単独収容ケージに戻す。これらの実験のための対照マウスもまた単独収容ケージに維持する。ストレスプロトコールに従って、該マウスをうつ病様行動プロファイルについてモニターする。次いで、マウスを　　殺し、組織試料を採取する。脳を迅速に切り出し（ｍＲＮＡを保存する条件下で）、ＩＴＩへの輸送のために－８０℃で凍結する。　　殺時に血液を回収し、血清用に調製する。炎症誘発性および抗炎症性サイトカインおよびケモカインを含む一群のマーカーについて脳組織および血清を分析する。

【０１２５】

Ａ）神経炎症マーカーに対するＣＵＳプロトコールの効果：

Ｃ５７Ｂｌ／６マウスをＣＵＳプロトコール（記載のとおり、１４ｄ）または偽処理に供し、特定の時点でうつ病様行動について評価し、血液の回収（血清調製）および脳回収のために　　殺する。血清はコルチコステロン（ＣＯＲＴ）レベルおよび他の炎症マーカーについて分析する。脳はｑＰＣＲ（ｍＲＮＡ）およびＭＳＤ（タンパク質）によって一群の炎症マーカーについて分析する。ＣＵＳプロトコールは、正常マウスにおけるうつ病様行動の誘発と並行して、炎症誘発性サイトカイン／ケモカインのＣＮＳおよび血清中レベルを有意に上昇させる。

【０１２６】

Ｂ）ストレス誘発性の脳および血清炎症マーカーに対するＰＤＥ１阻害剤の効果：

Ｃ５７Ｂｌ／６マウスのコホート（ＰＤＥ１Ｂ　ＫＯについてはＷＴ）をＣＵＳプロトコール（記載の通り、１４ｄ）または偽処理に供し、化合物２１４（１０ｍｇ／ｋｇ、腹腔内）またはビヒクルのいずれかを毎日投与する。マウスを特定の時点でうつ病様行動について評価して、うつ病様表現型に対するＣＵＳプロトコールの影響およびＰＤＥ１阻害剤処理の影響を試験する。血液の回収（血清調製）および脳回収のためにマウスを直ちに　　殺する。血清はＣＯＲＴレベルおよび他の炎症マーカーについて分析する。脳試料はｑＰＣＲ（ｍＲＮＡ）およびＭＳＤ（タンパク質）によって一群の炎症マーカーについて分析する。ＰＤＥ１阻害剤は、正常マウスにおけるＣＵＳ誘発性ＣＮＳおよび血清マーカー（炎症誘発性）ならびにうつ病様行動の発現を有意に抑制する。

【０１２７】

Ｃ）ストレス誘発性脳および血清マーカーに対するＰＤＥ１Ｂ　ＫＯの効果：

ＷＴおよびＰＤＥ１Ｂ　ＫＯマウスのコホートを処理し、化合物２１４（１０ｍｇ／ｋｇ、腹腔内）またはビヒクルのいずれかを毎日投与して、ＣＵＳプロトコールまたは偽処理のいずれかに供する。マウスを特定の時点でうつ病様行動について評価して、うつ病様表現型に対するＣＵＳプロトコールおよびＰＤＥ１阻害剤の処理の影響を試験する。血液の回収（血清調製）および脳回収のためにマウスを直ちに　　殺する。血清はＣＯＲＴレベルおよび他の炎症マーカーについて分析し、脳試料はまたｑＰＣＲ（ｍＲＮＡ）およびＭＳＤ（タンパク質）による位置愚の炎症マーカーについて分析する。ＰＤＥ１Ｂ　ＫＯマウスは、ＣＵＳ誘発性ＣＮＳおよび血清マーカー（炎症誘発性）が有意に抑制されたことを示す。さらにまた、正常マウスに見られるうつ病様行動の発現（すなわち、ＣＵＳプロ

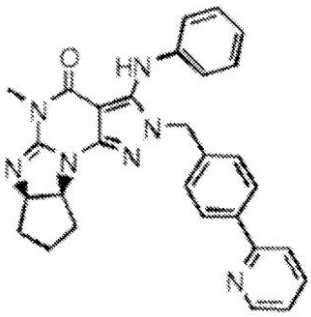
トコールを受けていた）はＫＯにおいて減少する。これらの組織および血清マーカーならびに行動に対するＰＤＥ１阻害剤はＰＤＥ１Ｂ　ＫＯマウスにおいて有意な効果を奏しない。

【０１２８】

実施例１０　－　視神経損傷モデルにおける効果

ＰＤＥ１阻害化合物を視神経損傷モデル（すなわち、「視神経挫傷（optic crush）」モデル）において試験する。以下の構造：

【化３８】



を有する選択的ＰＤＥ１阻害剤ＩＣ２０００４１を用いて下記の研究を行う。

【０１２９】

このモデルにおいて、従前の記載（Yin Y, et al., Oncomodulin links inflammation to optic nerve regeneration. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009; 106:19587-19592）に従って、８週齢の雄性マウス（平均体重２０～２６ｇ）に対して全身麻酔下にて視神経手術が行われる。神経損傷後、眼から体液３μｌを取り出し、ＰＤＥ１阻害化合物を含有する溶液を眼内注射する。

【０１３０】

合計４匹のマウスの網膜をＰＤＥ１阻害剤で処理し、対照として合計１０匹のマウスの網膜にリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）を投与する。視神経損傷の１４日後にマウスを過剰量の麻酔で典型的に安楽死させ、生理食塩水および４％パラホルムアルデヒド（ＰＦＡ）で灌流する。これらのマウスは　　殺されたとき１０週齢である。視神経および眼を切り出し、ＰＦＡでポストフィックス（postfix）する。神経に１０％シュークロースを含浸させ、次いで、３０％シュークロースを含浸させ、ＯＣＴ　Ｔｉｓｓｕｅ　Ｔｅｋ　Ｍｅｄｉｕｍ（Sakura Finetek）中に包埋させ、凍結させ、縦方向の平面で厚さ１４μｍに切断し、コートスライド（coated slide）に載せる。ＧＡＰ－４３に対するヒツジ抗体、次いで、蛍光標識された二次抗体で染色することによって、再生軸索を可視化する。損傷部位から予め指定された距離で、１ケースあたり少なくとも８つの縦断面において軸索を手動で計数し、これらの数を様々な距離における再生軸索の数に変換した。

【０１３１】

網膜損傷後、定量分析は、網膜神経節細胞におけるＰＤＥ発現が非常に増加していることを示す。特に、ＰＤＥ１ＢのメッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）は、損傷後に約４倍アップレギュレートする。標準的な方法を用いて組織からＲＮＡを抽出し、定量的ＲＮＡｓｅｑ配列決定法を用いてｍＲＮＡを定量化した。ベータアクチンの標準的なｍＲＮＡ、および４つのグルタミン酸受容体、すなわちＮＭＤＡ　Ｒ１ならびにＡＭＰＡＫ　Ｒ１、Ｒ２およびＲ３は並行して評価され、有意な変化を示さない。

【０１３２】

ＩＣ２０００４１は、ＰＢＳ対照と比較した場合、網膜神経節細胞の生存の増加に非常に有効である。また、対照網膜神経節細胞とＩＣ２０００４１で処理した網膜神経節細胞との差異は統計学的に有意である。データは図１２内に示されている。

本願は、以下の態様も包含する。

［態様１］

炎症、および／または炎症性疾患もしくは障害（例えば、神経炎症）の治療または予防方法であって、該治療または予防を必要とする患者にＰＤＥ１阻害剤を投与することを含む、方法。

［態様２］

ＰＤＥ１阻害剤が、１０ｎＭ未満のＩＣ$_{50}$をもってＰＤＥ１の活性を阻害し（例えば、実施例１に記載のアッセイにおいて）、例えば、ＰＤＥ１阻害剤が、ＰＤＥ１以外のＰＤＥタイプの活性を阻害せず、例えば、ＰＤＥ１以外のＰＤＥタイプについて少なくとも１０００倍大きいＩＣ$_{50}$を有する、態様１記載の方法。

［態様３］

ＰＤＥ１阻害剤が、上記の式Ｉ、ＩＩ、ＩＩＩ、ＩＶ、Ｖ、ＶＩ、ＶＩＩ、ＶＩＩＩ、ＩＸ、Ｘ、ＸＩおよび／またはＸＩＩのものである、態様１または２記載の方法。

［態様４］

例えば、

ａ．神経変性状態、例えばアルツハイマー病（ＡＤ）、パーキンソン病（ＰＤ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、および脱髄性状態、例えば多発性硬化症（ＭＳ）、およびプリオン病；

ｂ．脳卒中、心停止、低酸素症、脳出血または外傷性脳損傷；

ｃ．うつ病、統合失調症、心的外傷後ストレス障害、不安、注意欠陥障害および双極性疾患を包含する、異常な神経伝達物質産生および／または反応によって特徴付けられる状態；例えば、上記のいずれかが神経炎症に関連している場合；

ｄ．慢性ＣＮＳ感染症、例えば、ライム病、または免疫抑制状態の結果生じるＣＮＳ感染症、例えば、ＨＩＶ認知症；

ｅ．化学療法の結果生じる神経炎症

から選択される、神経炎症、ならびに／または神経炎症および／もしくはミクログリア機能に関連する疾患もしくは障害の治療または予防のための、いずれかの上記態様に記載の方法。

［態様５］

患者が、

ａ．１種類以上の炎症誘発性サイトカイン（例えば、ＩＬ１β、ＴＮＦα、Ｃｃｌ２、ＩＬ－６、およびそれらの組み合わせから選択される）のレベル上昇；

ｂ．１種類以上の抗炎症性サイトカイン（例えば、ＩＬ－１０）のレベル減少；

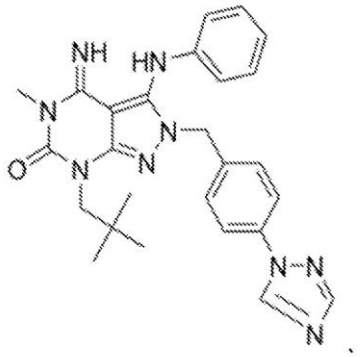
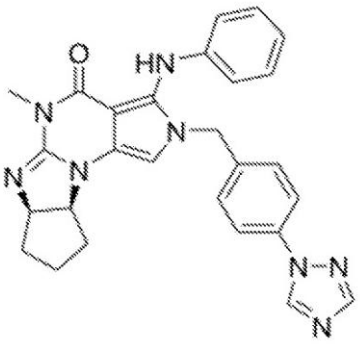
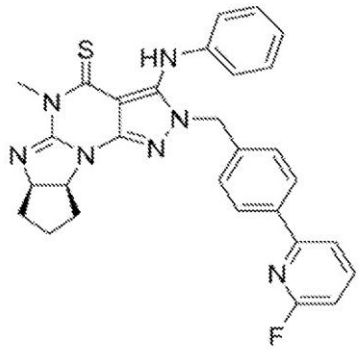
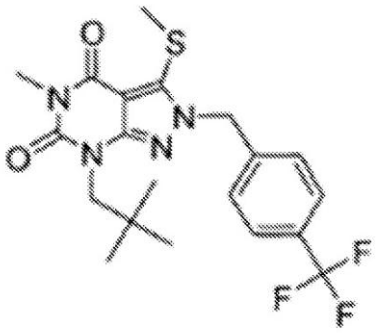
ｃ．ミクログリアＭ２表現型と比べたミクログリアＭ１表現型のレベル上昇

を有する、いずれかの上記態様に記載の方法。

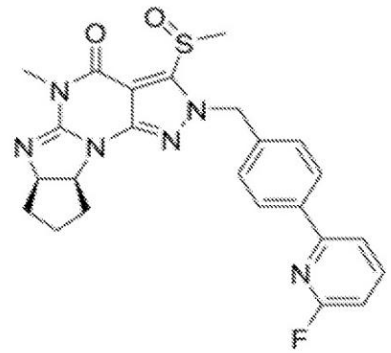
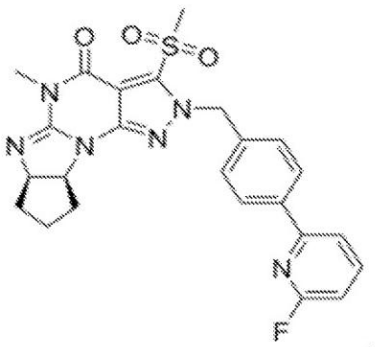
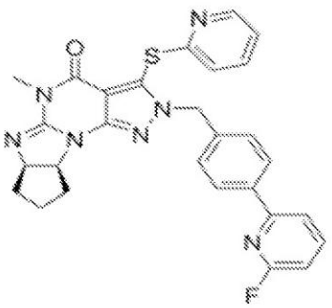
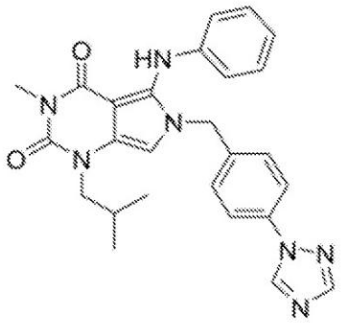
［態様６］

ＰＤＥ１阻害剤が下記：

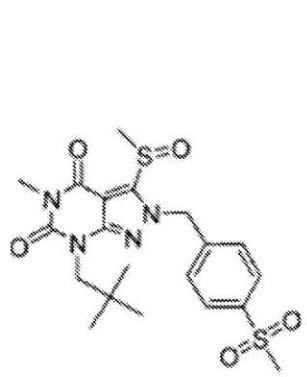
【化３９】

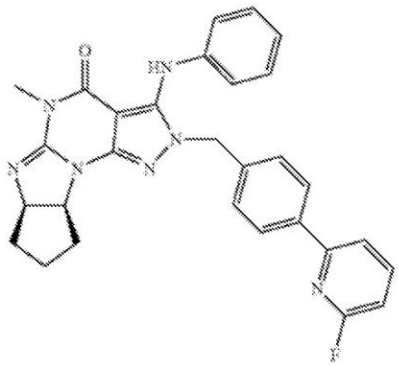

、

、

、

。

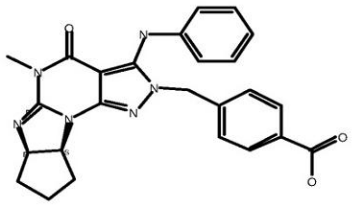
【化４０】

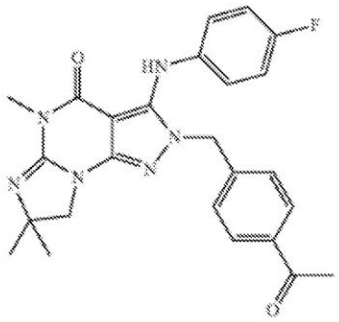

、

、

、

。

【化４１】







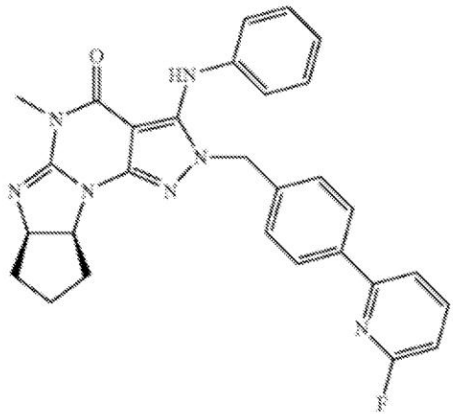


のいずれかから選択される、上記態様のいずれか。

［態様７］

ＰＤＥ１阻害剤が、下記のもの：

【化４２】

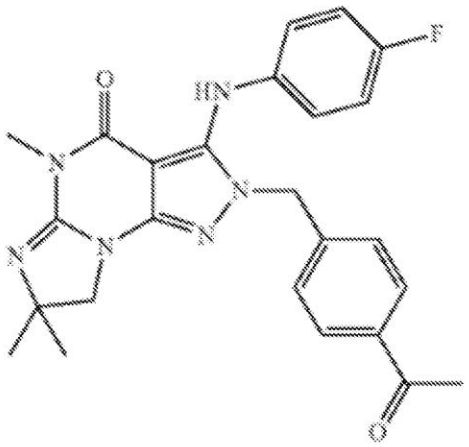


である、態様６記載の方法。

［態様８］

ＰＤＥ１阻害剤が、下記のもの：

【化４３】



である、態様６記載の方法。

［態様９］

ＰＤＥ１阻害剤が、ＰＤＥ４阻害剤（例えば、ロリプラム）と組み合わせて投与される、上記態様のいずれかに記載の方法。

［態様１０］

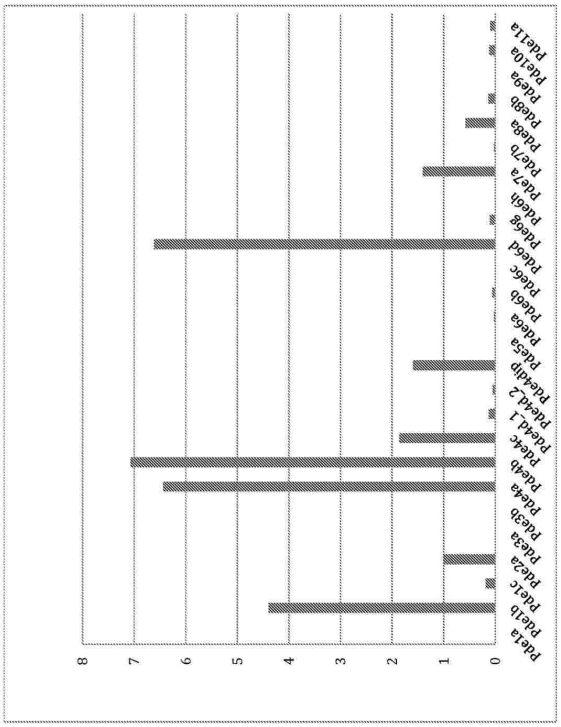
ＰＤＥ１阻害剤が、遊離形態または薬学的に許容される塩形態の、選択的セロトニン再取り込み阻害剤（ＳＳＲＩ）、セロトニン・ノルエピネフリン再取り込み阻害剤（ＳＮＲＩ）、三環系抗うつ薬（ＴＣＡ）および非定型抗精神病薬から選択される１種類以上の抗うつ薬；例えば、遊離形態または薬学的に許容される塩形態の、非定型抗精神病薬、例えばルマテペロン（Lumateperone）、または遊離形態または薬学的に許容される塩形態の、ＳＳＲＩ、例えばフルオキセチン（Fluoxetine）と組み合わせて投与される、上記態様のいずれかに記載の方法。

［態様１１］

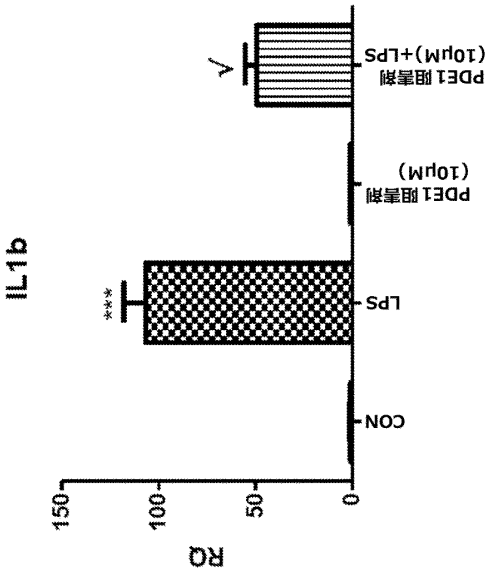
いずれかの上記態様に記載の方法のいずれかに使用するための、ＰＤＥ１阻害剤、またはＰＤＥ１阻害剤を含む医薬組成物。

【図面】

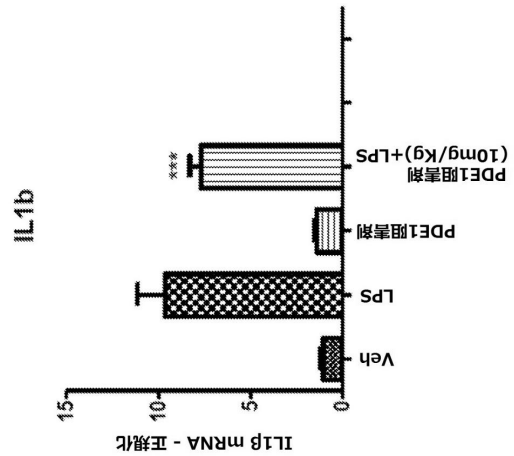
【図１】



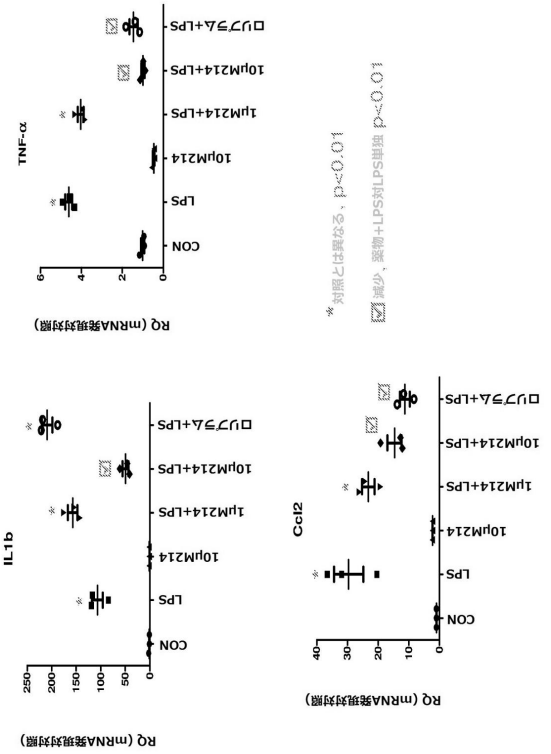
【図２】



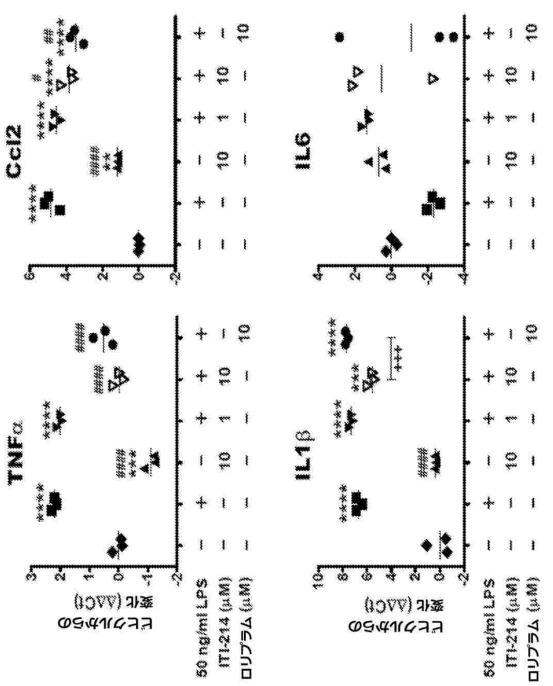
【図３】



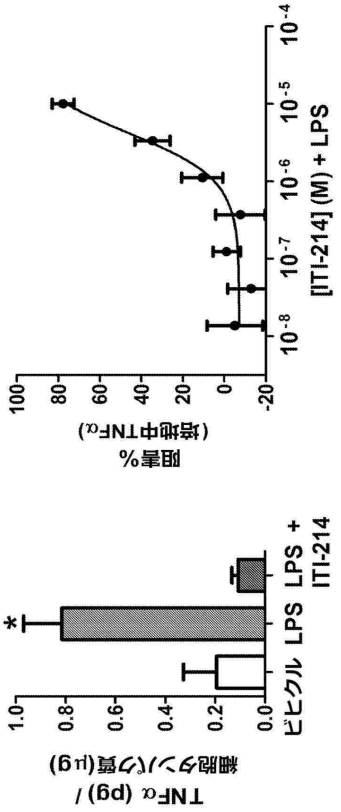
【図４ａ】



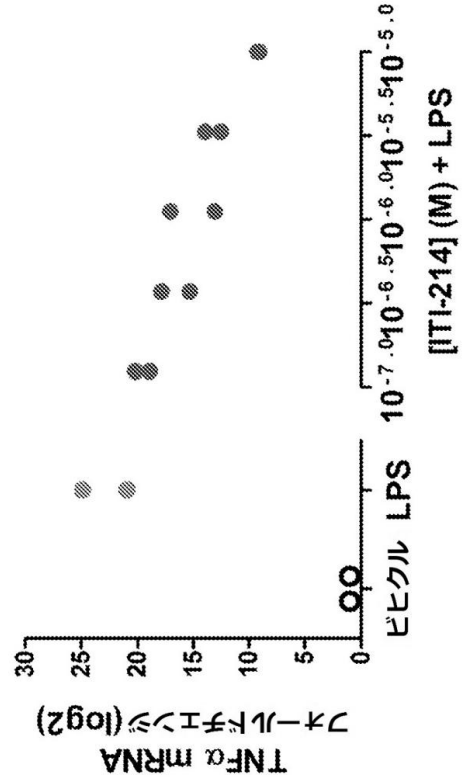
【図４ｂ】


Ccl2
IL6
TNFα
IL1β
ビヒクル
50 ng/ml LPS
ITI-214 (μM)
ロリプラム (μM)
変化 (ΔΔCt)

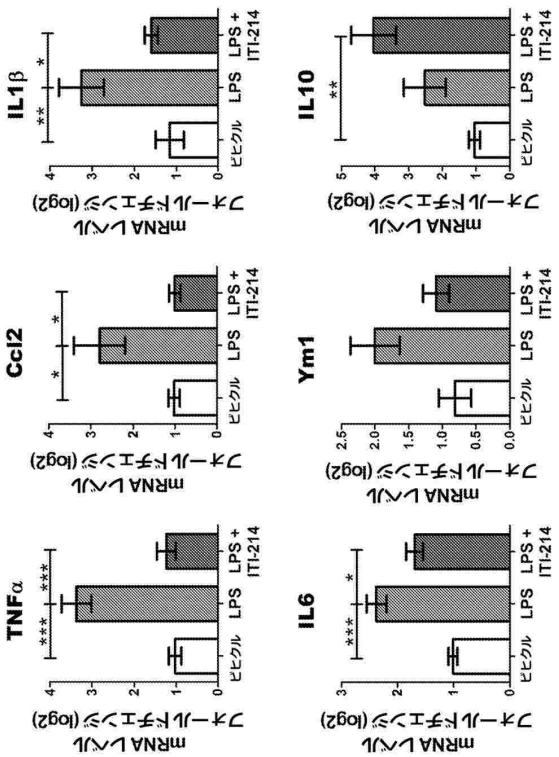
【図５】


TNFα (pg) / 細胞タンパク質(μg)
ビヒクル
LPS
LPS + ITI-214
阻害% (培地中TNFα)
[ITI-214] (M) + LPS

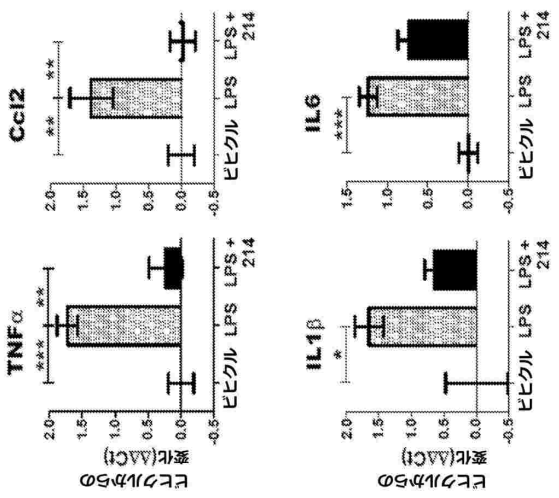
【図６】


TNFα mRNA フォールドチェンジ (log2)
ビヒクル
LPS
[ITI-214] (M) + LPS

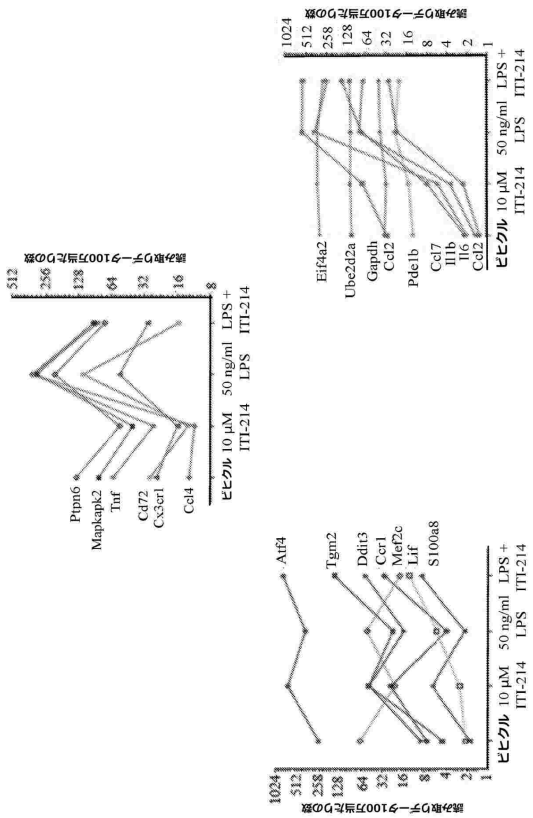
【図７】


IL1β
IL10
Ccl2
Ym1
TNFα
IL6
mRNA レベル フォールドチェンジ (log2)
ビヒクル
LPS
LPS + ITI-214

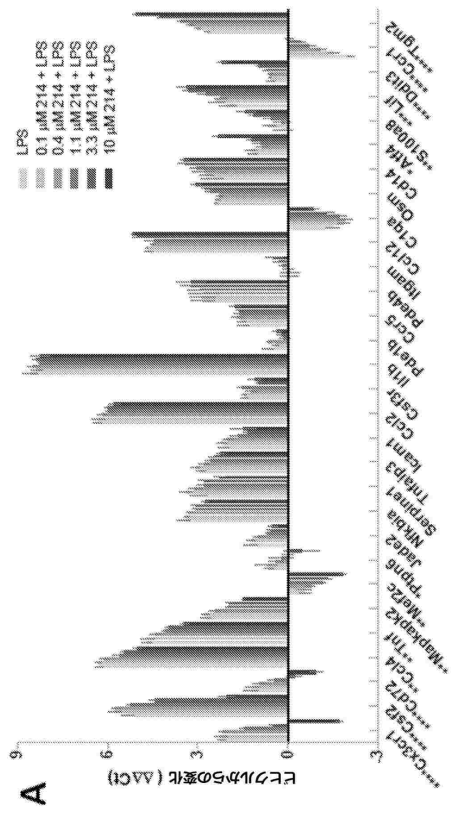
【図８】



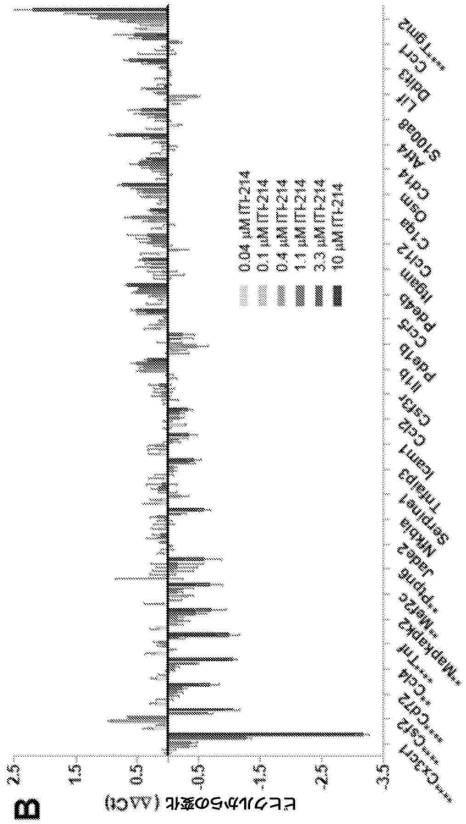
【図９】



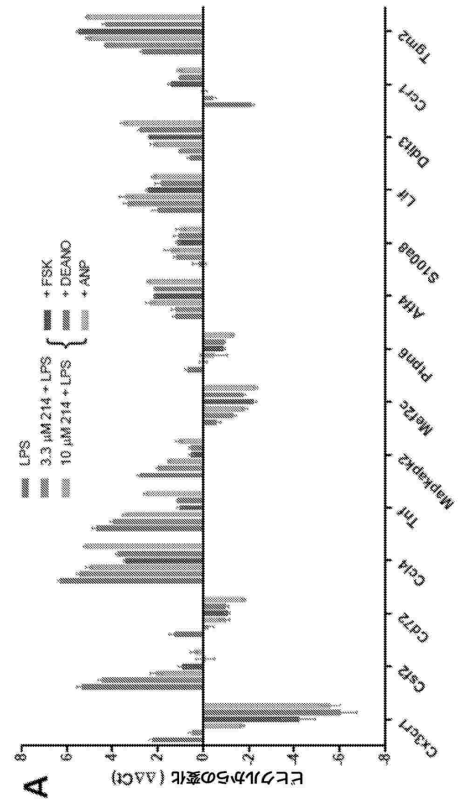
【図１０ａ】



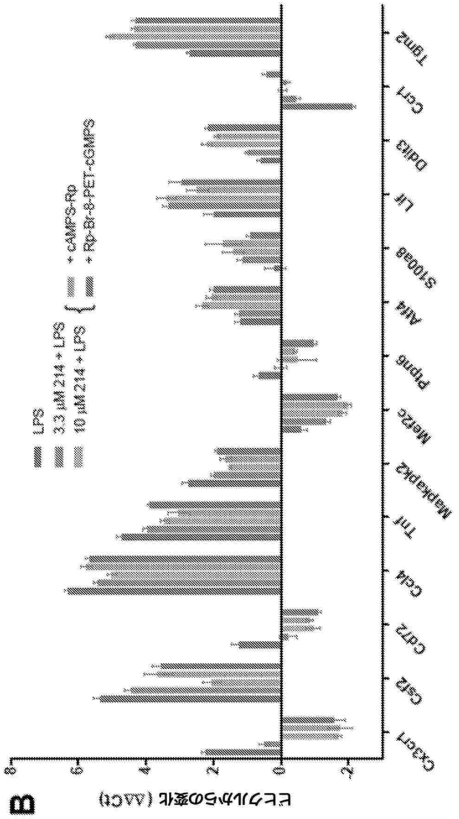
【図１０ｂ】



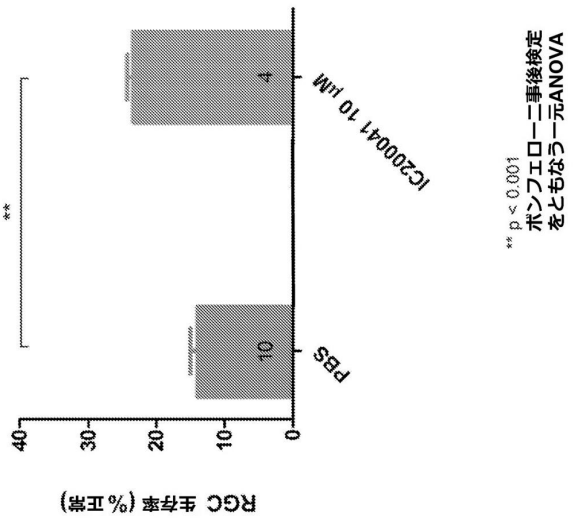
【図１１ａ】



【図１１ｂ】



【図１２】



フロントページの続き

(51)国際特許分類
Ａ６１Ｐ　43/00　(2006.01)

ＦＩ
Ａ６１Ｐ　43/00　１１１
Ａ６１Ｐ　43/00　１２１

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/467,218
(32)優先日　平成29年3月5日(2017.3.5)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

前置審査

州ニューヨーク、イースト・トウェンティナインス・ストリート４３０番、スウィート９００、イントラ－セルラー・セラピーズ・インコーポレイテッド内
(72)発明者　ローレンス・ピー・ウェノグル
アメリカ合衆国１００１６ニューヨーク州ニューヨーク、イースト・トウェンティナインス・ストリート４３０番、スウィート９００、イントラ－セルラー・セラピーズ・インコーポレイテッド内
(72)発明者　ジェニファー・オブライエン
アメリカ合衆国１００１６ニューヨーク州ニューヨーク、イースト・トウェンティナインス・ストリート４３０番、スウィート９００、イントラ－セルラー・セラピーズ・インコーポレイテッド内
(72)発明者　ジョゼフ・ヘンドリック
アメリカ合衆国１００１６ニューヨーク州ニューヨーク、イースト・トウェンティナインス・ストリート４３０番、スウィート９００、イントラ－セルラー・セラピーズ・インコーポレイテッド内

審査官　小川　知宏

(56)参考文献
特表２０１６－５１２８４２（ＪＰ，Ａ）
Psychopharmacology，2016年，233，3113-3124
Journal of Medical Chemistry，2016年，59，1149-1164
Current Opinion in Pharmacology，2007年，7，86-92
Experimental Neurology，2013年，247，80-90
Frontiers in Neuroscience，2011年，5，Article 21
Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry，2014年，277-286

(58)調査した分野　(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ　３１／５１９
Ａ６１Ｋ　３１／４０１５
Ａ６１Ｋ　４５／００
Ａ６１Ｐ　２５／００
Ａ６１Ｐ　２９／００
Ａ６１Ｐ　４３／００
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）